

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

DE L'ABSORPTION DES ANTITOXINES PAR LA PEAU

par R. RICHOU.

(Institut Pasteur, annexe de Garches.)

Le pouvoir absorbant de la peau à l'égard de nombreuses substances, et en particulier des substances médicamenteuses, est connu depuis longtemps. Le mercure, l'iode, le gaiacol, le salicylate de méthyle, le soufre, etc., sont absorbés par le tégument cutané. L'absorption de ces substances est plus rapide et plus marquée si elles sont incorporées à des corps gras. En application simple, les diverses huiles, l'axonge, la glycérine, le suif donnent les pénétrations les plus rapides.

L'absorption des substances antigènes a été également examinée. Gernez, au cours d'un travail des plus intéressants sur la cuti-immunisation, a montré que les globules rouges de chèvre par exemple, choisis comme antigène et appliqués en pansement sur la peau rasée du lapin, sont absorbés, puis, passant dans la circulation, donnent naissance à une réaction humorale caractérisée par l'apparition d'hémolysines spécifiques, décelables dans le sang. Entre la voie hypodermique et la voie percutanée d'introduction de l'antigène, Gernez n'a constaté, quant à la réaction humorale provoquée, qu'une dif-

férence de degré et non pas une différence de nature; la porte d'entrée cutanée de l'antigène ne se comporte pas différemment des autres modes d'inoculation.

Nous nous sommes proposé d'étudier l'absorption par la peau, non de l'antigène, mais de l'anticorps. Comme anticorps nous avons choisi l'antitoxine tétanique, dont la présence dans une région localisée ou dans l'économie générale d'un organisme peut être décelée soit par l'épreuve directe au moyen de la toxine spécifique, soit par un véritable dosage dans les humeurs.

Si divers expérimentateurs ont envisagé, dans un but thérapeutique, l'action des sérums antitoxiques — le sérum antitétanique en particulier — appliqués au niveau des plaies du revêtement cutané ou sur la peau elle-même (A. Calmette, en 1903, Besredka et ses collaborateurs dans plusieurs travaux récents, etc.), nous avons cherché, en ce qui nous concerne, à préciser le rôle de la peau dans l'absorption de l'antitoxine déposée à sa surface.

La peau se comporte-t-elle, à l'égard de l'antitoxine que l'on applique à sa surface, comme une membrane cellulaire, sensible, attractive, sélective, fixatrice? N'est-elle, au contraire, qu'une simple porte d'entrée ouverte au sérum et à l'antitoxine qu'il renferme, comme à de nombreuses autres substances?

Quelle est, nous sommes-nous demandé encore, l'importance du pouvoir absorbant, le degré de perméabilité de la peau? Ce pouvoir absorbant, cette perméabilité peuvent-ils être augmentés, diminués, abolis même, par divers moyens ou grâce à l'intervention de différents facteurs? Autant de questions que nous nous sommes posé.

Pour y répondre, nous avons entrepris, il y a plus d'un an, une série d'expériences. Nous en ferons connaître ici et les détails et les résultats.

Moyens d'étude et technique générale suivie.

Nos recherches ont porté sur des cobayes dont le poids variait de 400 à 470 grammes.

L'antitoxine était appliquée sur la peau sous l'une des

formes suivantes : sérum antitétanique titrant 300 unités antitoxiques au centimètre cube, employé pur ou dilué dans l'eau physiologique, ou desséché et pulvérulent, soit sous forme de pommade : pommade antitétanique n° 1 contenant 37,5 p. 100 de sérum antitétanique, pommade antitétanique n° 2 composée ainsi : 20 cent. cubes de sérum antitétanique purifié, titrant 300 unités au centimètre cube pour 40 grammes d'excipient (vaseline, 1 partie; lanoline, 3 parties), sérum antitétanique glyciné à 20 parties de glycérine pour 10 de sérum.

Les applications étaient faites au moyen de pansements : une bande de gaze imbibée de sérum pur ou dilué, ou de sérum glyciné, est étendue sur la surface rasée et maintenue en place par une toile qui entoure le corps du cobaye ; la pommade est appliquée directement sur la surface rasée, recouverte d'une gaze protectrice et maintenue en place comme précédemment.

Ces pansements étaient le plus souvent appliqués sur la peau du ventre, soit fraîchement rasée, soit rasée depuis six ou quarante-huit heures, soit épilée au moyen du sulfure de baryum, soit rasée et frictionnée au xylol, soit rasée et imbibée, quelques heures avant l'application du pansement, d'huile de ricin ou d'huile de vaseline, soit enfin sur la peau du ventre non rasée mais dont les poils avaient été préalablement coupés aux ciseaux. Le sérum antitétanique a été aussi appliqué dans certaines de nos expériences sur la peau rasée de la cuisse.

La durée d'application du pansement était, en général, de vingt-quatre heures, mais, dans certains cas, nous avons fait varier ce temps d'application.

La surface rasée ou épilée a toujours été relativement grande (environ $\frac{1}{5}$ de la surface du corps), sauf pour l'un de nos essais dans lequel nous avons fait varier cette surface.

Le pouvoir absorbant de la peau est mesuré par la quantité d'antitoxine qui traverse la membrane cutanée. Cette quantité peut être appréciée de deux façons : 1° en éprouvant directement l'animal d'expériences au moyen de doses variables de toxine, l'animal devant se montrer d'autant plus résistant que la quantité d'antitoxine absorbée est plus grande ; 2° en recherchant et en dosant l'antitoxine dans le sérum de l'animal.

Nos cobayes étaient éprouvés avec une quantité de toxine

tétanique correspondant, suivant les expériences, à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles (1) pour des cobayes neufs de même poids. Cette toxine tétanique glycinée stabilisée tuait le cobaye en quatre jours à la dose de 1/2.500 à 1/3.500 de centimètre cube suivant le poids des animaux.

L'épreuve avait lieu ou quelques heures avant l'application du pansement, ou un jour, trois jours, cinq jours, dix jours et même quinze jours après; l'injection de la toxine d'épreuve était effectuée soit sous la peau rasée, à l'endroit même où le pansement avait été appliqué, soit dans les muscles de la cuisse.

Nous attirons dès maintenant l'attention sur ce fait : si, à deux cobayes neufs de même poids, on injecte la même dose de poison tétanique dans les muscles de la cuisse chez l'un, sous la peau du ventre chez l'autre, l'apparition du tétanos et la mort seront plus précoces chez l'animal qui a reçu l'injection dans le muscle (tétanos d'abord localisé, puis progressif) que chez celui qui a reçu la même dose de toxine tétanique sous la peau (tétanos tardif paraissant généralisé d'emblée). Ce fait, dont il faut tenir compte dans l'appréciation des résultats, peut s'expliquer ainsi :

Le poison injecté dans la cuisse se fixe rapidement sur les terminaisons nerveuses particulièrement nombreuses à ce niveau, d'où l'apparition rapide des contractures; injectée sous la peau du ventre, la toxine tétanique n'y est pas retenue ou très faiblement par les terminaisons nerveuses, elle passe dans la circulation, d'où les manifestations plus tardives de contracture généralisée et la mort plus tardive elle aussi.

I. — Influence de l'état de la peau et du mode d'application du sérum antitoxique.

Recherchant dans quelles conditions l'état de la peau influe sur l'absorption de l'antitoxine, nous avons appliqué nos pansements sur des surfaces cutanées préparées différemment.

(1) Il est indispensable, pour ce genre d'expérience, d'employer une dose de toxine sûrement mortelle pour tous les animaux de même poids. Si l'on utilise une dose insuffisante de toxine, les résultats sont faussés par suite des différences de résistance individuelle.

1° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU FRAICHEMENT RASÉE.

EXPÉRIENCE I. — 6 cobayes reçoivent sur la peau fraîchement rasée un pansement au sérum antitétanique ; 6 sont pansés de la même façon au sérum normal de cheval ; 2 témoins sont laissés sans pansement.

Tous sont éprouvés, vingt-quatre heures après, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Les 6 cobayes pansés au sérum normal meurent de tétanos dans le même temps que les témoins.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos ; les 3 autres (injectés dans les muscles de la cuisse) font un tétanos grave et l'un d'eux succombe.

EXPÉRIENCE II. — 6 cobayes sont pansés avec la pommade antitétanique n° 1, 6 avec le mélange vaseline-lanoline ; 6 témoins sont laissés sans pansement.

Ces 18 cobayes sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Les 6 cobayes pansés avec le mélange vaseline-lanoline meurent de tétanos dans le même temps que les témoins.

Des 6 cobayes pansés avec la pommade antitétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos ; le troisième (injecté sous la peau du ventre également) ne présente que des symptômes tétaniques passagers ; quant aux 3 autres (injectés dans les muscles de la cuisse), ils sont pris de contractures mais ne succombent pas au tétanos.

EXPÉRIENCE III. — 5 cobayes sont pansés au sérum antitétanique glyciné 2 témoins sont laissés sans pansement.

Tous sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 5 cobayes pansés au sérum glyciné, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos ; les 2 autres (injectés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers.

EXPÉRIENCE IV. — 4 cobayes sont pansés au sérum antitétanique dilué (3 c.c. de sérum pour 7 c.c. d'eau physiologique) La surface rasée de 4 autres est frictionnée avec de l'eau physiologique, puis saupoudrée de sérum desséché pulvérulent. 2 témoins sont laissés sans pansement.

Ces 10 cobayes sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Des 4 cobayes pansés au sérum dilué, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique ; 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) font un tétanos grave et l'un d'eux succombe.

Des 4 cobayes pansés au sérum desséché pulvérulent, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux meurt de tétanos.

2° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU RASÉE SIX HEURES AUPARAVANT.

EXPÉRIENCE V. — 5 cobayes sont rasés et pansés six heures après au sérum antitétanique. 2 témoins sont laissés sans pansement.

Tous reçoivent, le lendemain, une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 5 cobayes pansés au sérum antitétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 1 (injecté sous la peau du ventre également) ne présente que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) font un tétanos grave et l'un d'eux succombe.

EXPÉRIENCE VI. — La peau du ventre de 18 cobayes est rasée. Six heures plus tard, 6 sont pansés avec la pommade antitétanique n^{os} 2 et 6 avec une pommade antidiphthérique à 10 p. 20.

Les 6 autres cobayes, destinés à servir de témoins, sont laissés sans pansement.

Vingt-quatre heures après, tous sont éprouvés avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre à cinq jours.

Les 6 cobayes pansés à la pommade antidiphthérique meurent de tétanos dans le même temps que les témoins.

Des 6 cobayes pansés à la pommade antitétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 1 (injecté sous la peau du ventre également) est pris de contracture et meurt de tétanos; les 3 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse font un tétanos grave et l'un d'eux succombe.

EXPÉRIENCE VII. — Six heures après avoir été rasés, 5 cobayes sont pansés au sérum antitétanique glycérimé. 2 témoins sont laissés sans pansement.

Vingt-quatre heures plus tard, ces 7 cobayes sont éprouvés avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en cinq et six jours.

Des 5 cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers.

3° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU RASÉE QUARANTE-HUIT HEURES AUPARAVANT.

EXPÉRIENCE VIII. — La peau du ventre de 10 cobayes est rasée. Quarante-huit heures après, ces 10 cobayes sont pansés au sérum antitétanique. 2 témoins sont laissés sans pansement.

Le lendemain, tous sont éprouvés avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 5 cobayes injectés sous la peau du ventre, 3 ne présentent aucun

symptôme de tétanos, les 2 autres sont pris de contractures mais ne succombent pas.

Les 3 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse font un tétanos grave et l'un d'eux meurt de tétanos.

EXPÉRIENCE IX. — Quarante-huit heures après avoir été rasés, 4 cobayes sont pansés avec la pommade antitétanique n° 2; 2 témoins sont laissés sans pansement.

Ces 6 cobayes sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en cinq et six jours.

Des 4 cobayes pansés avec la pommade antitétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos.

EXPÉRIENCE X. — 4 cobayes rasés depuis quarante-huit heures sont pansés au sérum antitétanique glycérimé. Ces 4 cobayes et 2 témoins sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 4 cobayes pansés avec le sérum antitétanique glycérimé, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques bénins et passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos.

4° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU FRAÎCHEMENT RASÉE ET FRICTIONNÉE AU XYLOL.

EXPÉRIENCE XI. — La peau fraîchement rasée de 18 cobayes est frictionnée au xylol (1) juste avant l'application d'un pansement, soit au sérum antitétanique, soit à la pommade antitétanique n° 2, soit au sérum antitétanique glycérimé.

Ces cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des témoins en quatre et six jours.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 3 (injectés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers.]

Des 6 cobayes pansés à la pommade antitétanique n° 2, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 1 (injecté dans les muscles de la cuisse également) est pris de contractures et succombe au tétanos.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé, 1 (seul injecté dans les muscles de la cuisse) est pris de contractures tétaniques passagères.

(1) Au moment de l'application du pansement, on note une importante hyperémie cutanée.

5° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU RASÉE
ET ENDUITE QUELQUES HEURES AUPARAVANT D'HUILE DE RICIN
OU D'HUILE DE VASELINE.

EXPÉRIENCE XII. — La peau fraîchement rasée de 17 cobayes est frictionnée à l'huile de ricin et recouverte d'un pansement protecteur.

Au bout de quelques heures, ces cobayes sont pansés, soit au sérum antitétanique n° 11, soit à la pommade antitétanique n° 2, soit au sérum antitétanique glycérimé.

Ces 17 cobayes et 3 témoins — non pansés — sont éprouvés vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique, qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Des 8 cobayes pansés au sérum antitétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 1 (injecté sous la peau du ventre également) ne présente que des symptômes passagers de tétanos. 5 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et 2 d'entre eux succombent au tétanos.

Des 4 cobayes pansés à la pommade antitétanique n° 2, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais ne succombent pas.

Des 5 cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 1 (injecté dans les muscles de la cuisse) ne présente que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse également) sont pris de contractures et l'un d'eux meurt de tétanos.

EXPÉRIENCE XIII. — La peau fraîchement rasée de 18 cobayes est frictionnée à l'huile de vaseline et protégée par un pansement.

Au bout de quelques heures, ces cobayes sont pansés, soit au sérum antitétanique, soit à la pommade antitétanique n° 2, soit au sérum antitétanique glycérimé.

Ces 16 cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Des 8 cobayes pansés au sérum antitétanique, 4 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 4 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos.

Des 4 cobayes pansés à la pommade antitétanique n° 2, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux meurt de tétanos.

Des 4 cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé, un seul (injecté dans les muscles de la cuisse) est pris de contractures, mais ne succombe pas au tétanos.

6° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU FRAÎCHEMENT RASÉE
MAIS APRÈS INJECTION, QUARANTE-HUIT HEURES AUPARAVANT,
D'UNE SOLUTION DE TRYPANBLEU.

EXPÉRIENCE XIV. — 18 cobayes reçoivent sous la peau du ventre 5 cent. cubes d'une solution de trypanbleu à 1 p. 1.000. Le surlendemain, ces cobayes sont rasés et pansés, soit au sérum antitétanique, soit à la pommade antitétanique n° 2, soit au sérum glyciné (un certain nombre de cobayes présentent une eschare au point d'injection du trypanbleu).

Vingt-quatre heures plus tard, ces 18 cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 3 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos.

Des 6 cobayes pansés à la pommade antitétanique n° 2, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 3 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais aucun ne meurt de tétanos.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique glyciné, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 1 (injecté dans les muscles de la cuisse également) fait un tétanos plus grave, mais ne succombe pas.

7° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU FRAÎCHEMENT ÉPILÉE.

EXPÉRIENCE XV. — 14 cobayes sont épilés au moyen de sulfure de baryum (1) et pansés aussitôt, soit au sérum antitétanique, soit à la pommade antitétanique n° 11, soit au sérum antitétanique glyciné.

Ces cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique, 1 (injecté sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme de tétanos, 2 (injectés sous la peau du ventre également) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 3 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un meurt de tétanos.

Des 4 cobayes pansés à la pommade antitétanique n° 2, 1 (injecté sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme tétanique, 1 (injecté sous la peau du ventre également) ne présente que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais aucun ne succombe au tétanos.

Des 4 cobayes pansés au sérum antitétanique glyciné, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais ne meurent pas.

(1) Au moment de l'enlèvement des pansements, on constate de nombreux petits points inflammatoires du tégument cutané.

8° ANTITOXINE APPLIQUÉE SUR LA PEAU

DONT LES POILS ONT ÉTÉ PRÉALABLEMENT COUPÉS AUX CISEAUX.

EXPÉRIENCE XVI. — 4 cobayes reçoivent un pansement au sérum antitétanique sur la peau du ventre dont les poils ont été préalablement coupés aux ciseaux.

Vingt-quatre heures plus tard, ces 4 cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des témoins en trois et quatre jours.

Les 4 cobayes qui avaient reçu le pansement antitétanique succombent dans le même temps que les témoins.

Si nous comparons entre eux les résultats des diverses expériences que nous venons d'exposer, nous voyons que la peau fraîchement rasée ou épilée est capable, ainsi que nous nous y attendions, d'absorber l'antitoxine.

L'épreuve des cobayes nous montre que la peau rasée depuis six heures absorbe l'antitoxine sensiblement dans les mêmes conditions que la peau fraîchement rasée et que, au contraire, la peau rasée depuis quarante-huit heures a, vis-à-vis de l'antitoxine, un pouvoir absorbant moins marqué. Ceci n'est pas pour nous surprendre : les érosions cutanées dues au rasoir et qui favorisent grandement l'absorption sont en voie de réparation dès la sixième heure et en partie cicatrisées au bout de quarante-huit heures.

La friction de la peau au xylol, grâce à l'hyperémie cutanée qu'elle provoque, favorise l'absorption de l'antitoxine.

La friction préalable de la peau à l'huile de ricin ou à l'huile de vaseline ou l'injection d'une solution de trypanbleu sous la surface rasée ne semblent pas, à l'inverse de ce que l'on pourrait penser, modifier l'absorption de l'antitoxine.

L'antitoxine appliquée sur la peau non rasée, mais dont les poils ont été coupés aux ciseaux, n'est pas absorbée.

La substance qui sert de véhicule à l'antitoxine intervient également dans l'absorption de celle-ci par la peau. En effet, nous constatons que le sérum antitétanique glycériné est mieux absorbé par la peau que le sérum pur ou incorporé au mélange vaseline-lanoline.

II. — Influence de la surface d'absorption.

La surface d'absorption joue d'ordinaire un rôle primordial lors d'application de médicaments sur la peau ; par l'étendue même des surfaces recouvertes, des médicaments inoffensifs en apparence ont pu causer des intoxications graves.

En faisant varier la surface de contact de la peau et du pansement antitoxique, nous avons cherché à montrer que la question de surface intervenait également dans l'absorption de l'antitoxine par la peau.

1° TITRAGE DE L'ANTITOXINE DU SÉRUM DE COBAYES PANSÉS SUR UNE SURFACE VARIABLE.

EXPÉRIENCE XVII. — 6 cobayes sont rasés sur une surface représentant environ : pour les 2 premiers $\frac{1}{5}$, pour les 2 suivants $\frac{1}{10}$, pour les 2 derniers $\frac{1}{20}$ de la surface totale du corps.

Ces 6 cobayes reçoivent un pansement au sérum antitétanique. Vingt-quatre heures plus tard, ils sont saignés et l'on titre l'antitoxine contenue dans leur sérum.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

SURFACE D'ABSORPTION	TITRE ANTITOXIQUE DU SÉRUM
$\frac{1}{5}$ ° de la surface totale du corps.	+ $\frac{1}{60}$ ° d'unité.
$\frac{1}{10}$ ° de la surface totale du corps	— $\frac{1}{85}$ ° d'unité + $\frac{1}{170}$ ° d'unité
$\frac{1}{20}$ ° de la surface totale du corps	— $\frac{1}{170}$ ° d'unité.

2° RÉSULTATS OBTENUS EN ÉPROUVANT AVEC LA TOXINE TÉTANIQUE DES COBAYES PANSÉS SUR UNE SURFACE VARIABLE.

EXPÉRIENCE XVIII. — 10 cobayes sont rasés sur une surface représentant environ : pour les 5 premiers $\frac{1}{5}$, pour les 5 derniers $\frac{1}{20}$ seulement de la surface totale du corps.

Ces cobayes sont pansés aussitôt au sérum antitétanique et éprouvés, vingt-quatre heures après, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en trois et quatre jours.

Des 5 cobayes pansés sur une large surface, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais ne succombent pas au tétanos.

Les 3 cobayes pansés sur une surface réduite et éprouvés sous la peau du ventre font un tétanos grave et 2 d'entre eux succombent.

Les 2 cobayes pansés sur une surface réduite et injectés dans les muscles de la cuisse sont pris de contractures et meurent de tétanos.

Le dosage de l'antitoxine contenue dans le sérum des cobayes pansés sur une surface variable, d'une part, et, d'autre part, l'épreuve des cobayes préparés de la même façon, montrent que la question de surface intervient lors de l'absorption des antitoxines par la peau.

La quantité d'antitoxine absorbée est proportionnelle à l'étendue de la surface de contact de la peau et du pansement antitoxique.

III. — Influence de l'endroit d'absorption.

La finesse, la souplesse de la peau sont l'un des facteurs de l'absorption cutanée. La peau du ventre, très fine chez le cobaye, laisse pénétrer l'antitoxine; en est-il de même nous sommes-nous demandé, de la surface cutanée de toute autre partie du corps, de la surface cutanée de la cuisse, par exemple.

A cet effet, nous avons rasé, puis recouvert d'un pansement au sérum ou à la pommade antitétanique l'une des cuisses d'un certain nombre de cobayes qui furent éprouvés vingt-quatre heures plus tard.

EXPÉRIENCE XIX. — Chez 7 cobayes, la cuisse droite est rasée : 3 reçoivent un pansement au sérum antitétanique, 4 sont pansés avec la pommade antitétanique n° 2.

Ces 7 cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés au bout de vingt-quatre heures, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre jours. L'injection d'épreuve est faite, soit sous la peau du ventre, soit dans les muscles de la cuisse qui a reçu le pansement, soit dans les muscles de la cuisse opposée.

Les 6 cobayes pansés à la pommade n° 2 sont pris de contractures et meurent de tétanos en cinq à six jours.

Les 6 cobayes pansés au sérum antitétanique sont pris de contractures : seul, le cobaye qui avait reçu l'injection de toxine dans les muscles de la cuisse pansée ne succombe pas au tétanos.

Dans un autre essai, nous avons injecté la dose d'épreuve trois heures avant l'application du pansement antitoxique.

EXPÉRIENCE XX. — 3 cobayes reçoivent dans les muscles de la cuisse droite une quantité de toxine tétanique qui amène la mort de 2 cobayes témoins en quatre jours. Trois heures plus tard, la cuisse droite de chaque cobaye est rasée et pansée au sérum antitétanique.

Ces 3 cobayes sont pris de contractures et meurent de tétanos dans le même temps que les témoins.

Appliquée sur la surface rasée de la cuisse, au lieu de l'être sur la peau du ventre, l'antitoxine tétanique n'est donc que très difficilement absorbée, puisqu'un seul cobaye sur 10 a résisté à l'intoxication tétanique.

Deux causes sont ici intervenues pour rendre l'absorption sinon nulle du moins extrêmement faible, d'une part, la surface d'absorption peu étendue, d'autre part, la finesse de la peau moins grande au niveau de la cuisse qu'au niveau de l'abdomen.

IV. — Degré de perméabilité de la peau.

Quel est le degré de perméabilité de la peau? La quantité d'antitoxine absorbée est-elle importante ou faible par rapport à la quantité d'antitoxine employée en application sur la peau?

Pour répondre à cette question, nous avons appliqué sur la peau fraîchement rasée d'un certain nombre de cobayes des pansements imbibés d'une quantité fixe de sérum antitétanique représentant environ 900 unités antitoxiques. Vingt-quatre heures plus tard, ces cobayes ont été saignés et l'antitoxine contenue dans leur sérum a été titrée.

Les dosages effectués nous ont montré que le titre antitoxique du sérum est compris entre $1/60$ et $1/20$ d'unité.

Il ressort de cette expérience que la quantité d'antitoxine qui passe à travers le tégument cutané est très faible, surtout si on la compare à la surface d'absorption et à la quantité d'antitoxine utilisée. Ainsi, par exemple, pour une surface d'absorption égale au $1/5$ de la surface totale du corps de l'animal et pour une quantité d'antitoxine employée correspondant à 900 unités antitoxiques, on retrouve dans la circulation environ $1/40$ d'unité par centimètre cube de sang, soit à peine une unité dans tout l'organisme.

Nous avons d'ailleurs constaté dans des expériences relatées plus loin que $1/3$ d'unité antitoxique injecté sous la peau d'un cobaye le préserve au moins autant, vis-à-vis de la même intoxication expérimentale, que 900 unités antitoxiques appliquées en pansement.

V. — Vitesse d'absorption.

Voulant nous rendre compte de la vitesse d'absorption, nous avons, d'une part, laissé nos pansements en place pendant un temps variable et, d'autre part, dans une autre série d'expériences, injecté la toxine d'épreuve une ou plusieurs heures avant l'application du pansement.

Voici le détail de ces expériences :

1° PANSEMENTS LAISSÉS EN PLACE PENDANT UN TEMPS VARIABLE.

EXPÉRIENCE XXI. — 12 cobayes sont rasés et pansés aussitôt au sérum antitétanique.

Les pansements des 4 premiers cobayes sont retirés dès la sixième heure ; ceux des 4 suivants sont enlevés au bout de douze heures ; ceux des 4 derniers sont laissés en place pendant vingt-quatre heures.

Ces 12 cobayes et 2 témoins — non pansés — sont éprouvés le lendemain avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en trois et quatre jours.

Des 4 cobayes pansés pendant six heures, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos ; les 2 autres (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures mais ne succombent pas.

Des 4 cobayes pansés pendant douze heures, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme de tétanos ; l'un des 2 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse meurt accidentellement, le deuxième est pris de contractures et meurt de tétanos.

Des 4 cobayes pansés pendant vingt-quatre heures, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures mais ne succombent pas.

2° INJECTION DE TOXINE FAITE UNE OU PLUSIEURS HEURES
AVANT L'APPLICATION DU PANSEMENT.a) *Antitoxine appliquée sur la peau fraîchement rasée.*

EXPÉRIENCE XXII. — 12 cobayes reçoivent, soit sous la peau du ventre, soit dans les muscles de la cuisse, une quantité de toxine tétanique qui amène la mort de 2 cobayes témoins en quatre et six jours.

Trois heures plus tard, ces cobayes sont rasés et pansés au sérum antitétanique. Le pansement de 6 d'entre eux est renouvelé au bout de douze heures.

Des 6 cobayes pansés une seule fois, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 3 (injectés dans les muscles de la cuisse) font un tétanos grave et deux d'entre eux succombent.

Des 6 cobayes dont le pansement avait été renouvelé, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, les

3 autres (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et deux d'entre eux meurent de tétanos.

EXPÉRIENCE XXIII. — 15 cobayes, fraîchement rasés, sont pansés avec la pommade antitétanique n° 2, soit sitôt, soit une heure ou trois heures après l'injection d'une quantité de toxine tétanique qui amène la mort de 6 cobayes témoins — pansés avec une pommade antidiphthérique — en cinq à six jours.

Des 5 cobayes, pansés sitôt après l'injection de toxine, 3 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais ne succombent pas au tétanos.

Des 5 cobayes, pansés une heure après l'injection de toxine, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux meurt de tétanos.

Des 5 cobayes pansés trois heures après l'injection de toxine, l'un (injecté sous la peau du ventre) ne présente que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés sous la peau du ventre également) sont pris de contractures et succombent au tétanos; les 2 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse font un tétanos grave et l'un d'eux meurt de tétanos.

EXPÉRIENCE XXIV. — 15 cobayes, fraîchement rasés, sont pansés avec la pommade antitétanique n° 1, soit sitôt, soit une heure ou trois heures après l'injection d'une quantité de toxine tétanique qui amène la mort de 6 cobayes témoins — pansés avec le mélange vaseline-lanoline — en quatre à six jours.

Des 5 cobayes, pansés sitôt après l'injection de toxine, 1 seul (injecté sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme tétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre également) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures, mais ne succombent pas au tétanos.

Les 5 cobayes, pansés une heure après l'injection de toxine, sont pris de contractures; 2 seulement (injectés sous la peau du ventre) ne succombent pas au tétanos.

Des 5 cobayes, pansés trois heures après l'injection de toxine, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers; les 3 autres (1, injecté sous la peau du ventre, 2, injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux (injecté dans les muscles de la cuisse) succombe au tétanos.

EXPÉRIENCE XXV. — 12 cobayes reçoivent une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours. Six heures après, ces cobayes sont rasés et pansés avec la pommade antitétanique n° 2. Les pansements de 6 de ces cobayes sont renouvelés six heures plus tard.

Des 6 cobayes pansés une seule fois, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, les 4 autres (1, injecté sous la peau du ventre, 3, injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et succombent au tétanos.

Des 6 cobayes dont le pansement avait été renouvelé, 1 seul (injecté sous la peau du ventre) ne présente que des symptômes tétaniques passagers; les 5 autres (2, injectés sous la peau du ventre, 3, injectés dans les muscles de la cuisse) font un tétanos grave et 3 d'entre eux succombent.

EXPÉRIENCE XXVI. — 12 cobayes reçoivent, soit sous la peau du ventre, soit

dans les muscles de la cuisse, une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Ces cobayes sont pansés au sérum antitétanique glycérimé, une heure, trois heures ou six heures après l'injection de toxine.

Des 4 cobayes pansés une heure après l'injection de toxine, l'un (injecté sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme tétanique, les 3 autres (1, injecté sous la peau du ventre, 2 injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux (injecté dans les muscles de la cuisse) succombe au tétanos.

Des 4 cobayes, pansés trois heures après l'injection de toxine, l'un (injecté sous la peau du ventre) ne présente que des symptômes tétaniques passagers; les 3 autres (1, injecté sous la peau du ventre, 2 injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et 2 d'entre eux (injectés dans les muscles de la cuisse) meurent de tétanos.

Les 4 cobayes, pansés six heures après l'injection de toxine, sont pris de contractures et 2 d'entre eux (injectés dans les muscles de la cuisse) meurent de tétanos.

b) *Antitoxine*

appliquée sur la peau rasée six heures auparavant.

EXPÉRIENCE XXVII. — 15 cobayes, rasés depuis six heures, sont pansés avec la pommade antitétanique n° 2, soit sitôt, soit une heure ou trois heures après l'injection d'une quantité de toxine tétanique qui amène la mort de 6 cobayes témoins en quatre à six jours.

Des 5 cobayes, pansés sitôt après l'injection de toxine, l'un (injecté sous la peau du ventre) ne présente que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés sous la peau du ventre également) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos; les 2 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse meurent de tétanos.

Des 5 cobayes, pansés une heure après l'injection de toxine, 3 (injectés sous la peau du ventre) sont pris de contractures; 2 guérissent, le troisième meurt de tétanos; les 2 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse font un tétanos grave auquel l'un d'eux succombe.

Des 5 cobayes, pansés trois heures après l'injection de toxine, 3 (injectés sous la peau du ventre) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos; les 2 cobayes injectés dans les muscles de la cuisse meurent de tétanos.

*
* *

Il apparaît donc que l'antitoxine, absorbée par la peau, l'est surtout dans les premières heures qui suivent l'application du pansement antitoxique: l'injection d'épreuve montre, en effet, que les cobayes dont le pansement a été laissé en place pendant douze et même vingl-quatre heures ne se comportent guère mieux, vis-à-vis de l'intoxication tétanique, que ceux dont on a retiré le pansement dès la sixième heure.

Confirmation de ces résultats est donnée par ceux obtenus lorsqu'on injecte la toxine tétanique une ou plusieurs heures

avant l'application du pansement antitoxique. Dans ces conditions, un certain nombre de cobayes ne présentent aucun symptôme ou seulement des symptômes passagers de tétanos. Il a donc fallu que l'absorption soit suffisamment rapide afin de permettre à l'antitoxine d'arriver à temps pour neutraliser l'action de la toxine injectée et empêcher ou atténuer l'intoxication tétanique.

VI. — Sort de l'antitoxine absorbée par la peau.

Afin de voir quel sort est réservé dans l'organisme à l'antitoxine absorbée par la peau, nous avons d'une part, dosé l'antitoxine contenue dans le sérum de cobayes pansés depuis un temps variable et, d'autre part, éprouvé des cobayes trois, cinq, dix ou quinze jours après l'application d'un pansement antitétanique.

1° DOSAGE DE L'ANTITOXINE

DU SÉRUM DE COBAYES PANSÉS DEPUIS UN TEMPS VARIABLE.

EXPÉRIENCE XXVIII. — 24 cobayes sont rasés et pansés aussitôt, 8 au sérum antitétanique, 8 à la crème antitétanique n° 2, 8 au sérum antitétanique glycérimé.

Dans chaque groupe, 2 cobayes sont saignés vingt-quatre heures après l'application du pansement, 2 au bout de cinq jours, 2 le dixième jour, et 2 le quinzième jour.

Le titrage de l'antitoxine du sérum donne les résultats suivants :

TEMPS ÉCOULÉ depuis l'application du pansement	FORME sous laquelle l'antitoxine a été employée en pansement	TITRE ANTITOXIQUE DU SÉRUM
1 jour	<div> Sérum antitétanique. Pommade, n° 2. Sérum glycérimé. </div>	<div> $+ \frac{1}{60^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{20^{\circ}}$ d'unité. $+ \frac{1}{60^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{20^{\circ}}$ d'unité. $+ \frac{1}{60^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{20^{\circ}}$ d'unité. </div>
5 jours	<div> Sérum antitétanique. Pommade, n° 2. Sérum glycérimé. </div>	<div> $+ \frac{1}{250^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{170^{\circ}}$ d'unité. $+ \frac{1}{170^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{60^{\circ}}$ d'unité. $+ \frac{1}{170^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{60^{\circ}}$ d'unité. </div>
10 jours	<div> Sérum antitétanique. Pommade, n° 2. Sérum glycérimé. </div>	<div> $+ \frac{1}{250^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{170^{\circ}}$ d'unité. $+ \frac{1}{250^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{170^{\circ}}$ d'unité. $+ \frac{1}{250^{\circ}}$ d'unité — $\frac{1}{170^{\circ}}$ d'unité. </div>
15 jours	Aucune trace d'antitoxine n'a pu être décelée dans le sérum des cobayes.	

**2^e RÉSULTATS OBTENUS EN ÉPROUVANT,
AVEC UNE QUANTITÉ DE TOXINE TÉTANIQUE
CORRESPONDANT A UNE DOSE MORTELLE,
DES COBAYES PANSÉS DEPUIS UN TEMPS VARIABLE.**

EXPÉRIENCE XXIX. — 15 cobayes fraîchement rasés sont pansés, soit au sérum antitétanique (5 cobayes), soit à la pommade antitétanique n° 2 (6 cobayes), soit au sérum antitétanique glycérimé (4 cobayes).

Ces 15 cobayes et 2 témoins sont éprouvés, trois jours plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 5 cobayes pansés au sérum antitétanique, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 3 (injectés dans les muscles de la cuisse) font un tétanos grave et l'un d'eux succombe.

Les 6 cobayes, pansés à la pommade antitétanique n° 2, sont pris de contractures et 4 d'entre eux (2, injectés sous la peau du ventre, 2 injectés dans les muscles de la cuisse) meurent de tétanos.

Des 4 cobayes, pansés au sérum antitétanique glycérimé, 2 (injectés sous la peau du ventre) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 2 (injectés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos.

EXPÉRIENCE XXX. — 48 cobayes, fraîchement rasés, sont pansés, soit au sérum antitétanique (24 cobayes), soit à la pommade antitétanique n° 2 (12 cobayes), soit au sérum antitétanique glycérimé (12 cobayes).

Ces 48 cobayes et 2 témoins sont éprouvés, au bout de cinq jours, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Des 12 cobayes pansés au sérum antitétanique et injectés sous la peau du ventre, 2 ne présentent aucun symptôme de tétanos, 2 ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, 8 font un tétanos grave auquel 5 d'entre eux succombent. Les 12 cobayes, pansés également au sérum antitétanique, mais injectés dans les muscles de la cuisse, sont pris de contractures; 7 d'entre eux meurent de tétanos.

Les 12 cobayes, pansés avec la pommade antitétanique n° 11, sont pris de contractures; les 6 cobayes, injectés dans les muscles de la cuisse, succombent au tétanos de même que 2 des 6 cobayes injectés sous la peau du ventre.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé et injectés sous la peau du ventre, 2 ne présentent que des symptômes tétaniques passagers, les 4 autres sont pris de contractures et 3 meurent de tétanos. Les 6 cobayes, pansés également au sérum antitétanique glycérimé, mais injectés dans les muscles de la cuisse, font un tétanos grave et 4 d'entre eux succombent.

EXPÉRIENCE XXXI. — 28 cobayes reçoivent sur la peau fraîchement rasée un pansement, soit au sérum antitétanique (17 cobayes), soit à la pommade antitétanique n° 2 (5 cobayes), soit au sérum antitétanique glycérimé (6 cobayes).

Ces 28 cobayes et 2 témoins sont éprouvés, dix jours après, avec une quan-

tilé de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Les 28 cobayes qui ont reçu un pansement antitoxique sont pris de contractures; 3 seulement ne succombent pas au tétanos.

EXPÉRIENCE XXXII. — 31 cobayes, fraîchement rasés, sont pansés, soit au sérum antitétanique (20 cobayes), soit à la pommade antitétanique n° 2 (6 cobayes), soit au sérum antitétanique glycérimé (5 cobayes).

Ces 31 cobayes et 2 témoins sont éprouvés, quinze jours plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et six jours.

Tous succombent au tétanos dans le même temps que les témoins.

3° RÉSULTATS OBTENUS EN ÉPROUVANT, AVEC DES DOSES VARIABLES DE TOXINE TÉTANIQUE, DES COBAYES PANSÉS DEPUIS UN TEMPS VARIABLE.

EXPÉRIENCE XXXIII. — 18 cobayes, fraîchement rasés, sont pansés, soit au sérum antitétanique (6 cobayes), soit à la pommade antitétanique n° 2 (6 cobayes), soit au sérum antitétanique glycérimé (6 cobayes).

Tous sont éprouvés, vingt-quatre heures plus tard, avec une quantité de toxine tétanique correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles.

6 témoins sont éprouvés de la même façon et succombent rapidement au tétanos.

Cobayes pansés au sérum antitétanique : 2 cobayes éprouvés avec une quantité de toxine correspondant à 5 doses mortelles, l'un sous la peau du ventre, l'autre dans les muscles de la cuisse, sont pris de contractures et succombent au tétanos.

Des 2 cobayes éprouvés avec une quantité de toxine correspondant à 2 doses mortelles 1/2, l'un (injecté sous la peau du ventre) ne présente que des symptômes tétaniques passagers, l'autre (injecté dans les muscles de la cuisse) meurt de tétanos.

Des 2 cobayes éprouvés avec une quantité de toxine correspondant à une dose mortelle, l'un (injecté sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme tétanique, l'autre (injecté dans les muscles de la cuisse) est pris de contractures, mais ne succombe pas.

Cobayes pansés à la pommade antitétanique : Des 3 cobayes injectés sous la peau du ventre, 2 (éprouvés avec une quantité de toxine correspondant à 2 1/2 et 5 doses mortelles) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers; 1 (éprouvé avec une quantité de toxine tétanique correspondant à 1 dose mortelle) ne présente aucun symptôme de tétanos.

Les 3 cobayes ayant reçu dans les muscles de la cuisse une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles meurent de tétanos en quelques jours.

Cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé : Les 3 cobayes ayant reçu sous la peau du ventre une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles ne présentent aucun symptôme tétanique.

Les 3 cobayes éprouvés avec une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles et injectés dans les muscles de la cuisse sont pris

de contractures ; seul ne succombe pas au tétanos le cobaye ayant reçu une quantité de toxine correspondant à une dose mortelle.

EXPÉRIENCE XXXIV. — 18 cobayes sont rasés et pansés aussitôt, 6 au sérum antitétanique, 6 avec la pommade antitétanique n° 2, 6 au sérum antitétanique glycérimé.

Ces 18 cobayes et 6 témoins — non pansés — sont éprouvés cinq jours plus tard avec une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles. Les 6 témoins meurent de tétanos en quelques jours.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique, 3 (ayant reçu sous la peau du ventre une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles) sont pris de contractures et seul ne succombe pas au tétanos le cobaye éprouvé avec une quantité de toxine correspondant à 1 dose mortelle ; 3 (ayant reçu dans les muscles de la cuisse une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles) font un tétanos grave et meurent.

Les 6 cobayes pansés à la pommade antitétanique n° 2 se sont comportés, à l'égard de l'intoxication tétanique, exactement comme ceux qui avaient reçu un pansement au sérum antitétanique.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique glycérimé, 2 (ayant reçu sous la peau du ventre une quantité de toxine correspondant à 2 1/2 et 5 doses mortelles) succombent rapidement au tétanos, 1 (ayant reçu sous la peau du ventre une quantité de toxine correspondant à 1 dose mortelle) ne présente aucun symptôme de tétanos, 3 (ayant reçu dans les muscles de la cuisse une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 et 5 doses mortelles) sont pris de contractures et seul ne succombe pas au tétanos le cobaye éprouvé avec une quantité de toxine correspondant à 1 dose mortelle.

EXPÉRIENCE XXXV. — Sitôt rasés, 18 cobayes reçoivent un pansement, soit au sérum antitétanique (6 cobayes), soit à la pommade antitétanique n° 2 (6 cobayes), soit au sérum antitétanique glycérimé (6 cobayes).

Ces 18 cobayes et 6 témoins — non pansés — sont éprouvés au bout de dix jours avec une quantité de toxine correspondant à 1, 2 1/2 ou 5 doses mortelles. Les témoins succombent rapidement au tétanos.

Les 18 cobayes ayant reçu un pansement sont tous pris de contractures ; 2 seulement (pansés l'un à la pommade antitétanique n° 2, l'autre au sérum antitétanique glycérimé et ayant reçu sous la peau du ventre une quantité de toxine correspondant à une dose mortelle) ne succombent pas au tétanos.

EXPÉRIENCE XXXVI. — Cette expérience est calquée sur la précédente, mais cette fois les cobayes ne sont éprouvés que quinze jours après l'application du pansement antitoxique.

A l'égard de l'intoxication tétanique, ils se comportent comme les cobayes neufs servant de témoins et, comme ceux-ci, succombent rapidement au tétanos.

L'examen des résultats obtenus au cours de ces diverses expériences permet de tirer les déductions suivantes :

L'antitoxine absorbée semble être à son maximum, au bout de vingt-quatre heures, dans l'organisme des cobayes ayant reçu un pansement antitoxique. Les dosages effectués montrent

que, quelle que soit la forme sous laquelle l'antitoxine a été employée, le taux antitoxique du sérum est compris au bout de vingt-quatre heures entre $1/60$ et $1/20$ d'unité, alors que dès le cinquième jour il est inférieur à $1/60$ d'unité. L'épreuve directe des cobayes au moyen de la toxine tétanique confirme ces résultats.

Dès le troisième jour, la quantité d'antitoxine passée dans la circulation générale commence à décroître comme le mettent en évidence les dosages effectués et l'épreuve directe des cobayes.

Au bout de cinq jours, la diminution du taux antitoxique du sérum s'accroît. L'épreuve intramusculaire plus sévère que l'épreuve sous-cutanée permet encore mieux que celle-ci de se rendre compte de cette diminution : sur 24 cobayes éprouvés dans les muscles de la cuisse, cinq jours après l'application du pansement antitoxique, 17 ont succombé rapidement au tétanos.

Au bout de dix jours, le sérum ne contient plus qu'une très faible quantité d'antitoxine ($1/170$ d'unité) : sur 28 cobayes éprouvés dix jours après l'application du pansement antitoxique, 3 seulement n'ont pas succombé au tétanos. Les cobayes éprouvés par voie sous-cutanée ne se sont pas mieux comportés, à l'égard de l'intoxication tétanique, que les cobayes éprouvés par voie intramusculaire.

Le quinzième jour après l'application d'un pansement antitoxique, l'antitoxine absorbée a complètement disparu de l'organisme : les dosages effectués n'ont pu en déceler trace. Vis-à-vis de l'épreuve directe à l'aide de la toxine tétanique et quel qu'ait été le mode d'injection, les cobayes antérieurement pansés se sont comportés comme des cobayes neufs.

VII. — Comparaison de l'absorption et du mode d'action de l'antitoxine administrée par la voie percutanée, sous-cutanée et intramusculaire.

Nous envisagerons successivement dans ce chapitre :

1° La relation qui existe entre la quantité d'antitoxine employée en application sur la peau ou en injection sous-cutanée et la quantité passant dans l'organisme ;

2° La vitesse d'absorption et la persistance de l'antitoxine introduite par voie percutanée et sous-cutanée ;

3° Le mode d'action de l'antitoxine pénétrant dans l'organisme par les différentes voies, percutanée, sous-cutanée, intramusculaire.

1° RELATION ENTRE LA QUANTITÉ D'ANTITOXINE
EMPLOYÉE EN APPLICATION SUR LA PEAU
OU EN INJECTION SOUS-CUTANÉE
ET LA QUANTITÉ PASSANT DANS L'ORGANISME.

Nous avons injecté sous la peau du ventre d'un certain nombre de cobayes des dilutions variables de sérum antitétanique, afin de voir quelle quantité de sérum il faut injecter sous la peau à des cobayes pour qu'ils se comportent, à l'égard de l'intoxication tétanique due à l'injection d'une quantité de toxine correspondant à une dose mortelle, comme des cobayes de même poids ayant reçu sur la peau fraîchement rasée un pansement au sérum antitétanique.

EXPÉRIENCE XXXVII. — Cette expérience a porté sur 12 cobayes : 6 reçoivent sous la peau du ventre une quantité de sérum correspondant à $3/10$ d'unité antitoxique ; les autres sont rasés et pansés aussitôt avec une gaze imbibée de 3 cent. cubes de sérum antitétanique représentant 900 unités antitoxiques.

Ces 12 cobayes sont éprouvés, cinq jours après l'application du pansement ou l'injection de sérum, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des témoins en quatre et cinq jours.

Des 6 cobayes ayant reçu l'injection de sérum, l'un (la toxine d'épreuve étant injectée sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme de tétanos ; les 5 autres (2 chez qui l'injection d'épreuve est faite sous la peau du ventre, 3 éprouvés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers.

Des 6 cobayes pansés au sérum antitétanique, 2 (éprouvés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique ; les 4 autres (1, éprouvé sous la peau du ventre, 3, éprouvés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et succombent, sauf un (éprouvé dans les muscles de la cuisse).

La relation existant entre la quantité d'antitoxine employée en application sur la peau ou en injection sous-cutanée et la quantité passant dans l'organisme est donc tout à l'avantage de l'antitoxine employée en injection sous-cutanée, puisqu'une quantité de sérum correspondant à $3/10$ d'unité antitoxique et injectée sous la peau d'un cobaye préserve celui-ci au moins

autant qu'une quantité de sérum représentant 900 unités antitoxiques et employée en application sur la peau.

La protection est plus grande lorsque l'injection d'épreuve est faite à l'endroit où a été injecté le sérum, ce qui est bien naturel.

2° VITESSE D'ABSORPTION. PERSISTANCE DE L'ANTITOXINE INTRODUITE PAR VOIE PERCUTANÉE OU SOUS-CUTANÉE.

EXPÉRIENCE XXXVIII. — 8 cobayes reçoivent sous la peau du ventre une injection de 3 cent. cubes de sérum antitétanique. 8 autres cobayes reçoivent sur la peau du ventre fraîchement rasée un pansement avec 3 cent. cubes du même sérum titrant 300 unités au centimètre cube.

2 cobayes de chaque groupe sont saignés trois heures plus tard, 2 au bout de six heures, 2 la douzième heure et 2 au bout de vingt-quatre heures seulement.

Le titrage de l'antitoxine contenue dans le sérum de ces cobayes donne les résultats suivants :

TEMPS ÉCOULÉ depuis l'application du pansement ou l'injection du sérum	MODE D'EMPLOI DU SÉRUM	TITRE ANTITOXIQUE DU SÉRUM des cobayes
3 heures . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	+ 1 unité — 3 unités. + 1/340 ^e d'unité — 1/120 ^e d'unité.
6 heures . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	+ 3 unités — 10 unités. + 1/120 ^e d'unité.
12 heures . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	+ 3 unités — 10 unités. + 1/120 ^e d'unité — 1/40 ^e d'unité.
24 heures . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	+ 10 unités — 30 unités. + 1/120 ^e d'unité — 1/40 ^e d'unité.

Deux autres expériences nous ont permis d'établir une comparaison entre la persistance de l'antitoxine introduite par voie percutanée et sous-cutanée.

EXPÉRIENCE XXXIX. — 8 cobayes sont rasés et pansés aussitôt avec 3 cent. cubes de sérum antitétanique représentant 900 unités antitoxiques. 8, reçoivent sous la peau du ventre une injection de 1/500 de centimètre cube de sérum antitétanique, soit 3/5 d'unité antitoxique.

Dans chaque groupe, 2 cobayes sont saignés vingt-quatre heures plus tard, 2 au bout de cinq jours, 2 le dixième jour et 2 le quinzième jour.

Le titrage de l'antitoxine du sérum donne les résultats ci-après :

TEMPS ÉCOULÉ depuis l'application du pansement ou l'injection de sérum	MODE D'EMPLOI DU SÉRUM	TITRE ANTITOXIQUE DU SÉRUM des cobayes
24 heures . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	+ 1/20° d'unité. + 1/60° d'unité — 1/40° d'unité.
5 jours. . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	+ 1/170° d'unité. + 1/250° d'unité — 1/170° d'unité.
10 jours. . . .	Injection sous-cutanée. Pansement.	— 1/170° d'unité. + 1/250° d'unité — 1/170° d'unité.
15 jours. . . .	Que le sérum ait été introduit dans l'organisme des cobayes par voie sous-cutanée ou par voie percutanée, nous n'avons pu déceler trace d'antitoxine dans le sérum de nos animaux.	

EXPÉRIENCE XL. — Cette expérience a porté sur 40 cobayes répartis en 2 groupes de 20. Les cobayes du premier groupe reçoivent sous la peau du ventre une injection de 1/1.000 de centimètre cube de sérum antitétanique, soit 1/3 d'unité antitoxique; ceux du deuxième groupe sont rasés et pansés aussitôt avec 3 cent. cubes de sérum représentant 900 unités antitoxiques.

6 cobayes de chaque groupe sont éprouvés, cinq jours, dix jours et quinze jours plus tard, avec une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des cobayes témoins en quatre et cinq jours.

Cobayes éprouvés au bout de cinq jours. — Des 6 cobayes du premier groupe, 1 seul (éprouvé sous la peau du ventre) ne présente aucun symptôme de tétanos; les 5 autres (2 éprouvés sous la peau du ventre, 3 éprouvés dans les muscles de la cuisse) présentent des symptômes tétaniques passagers,

Des 6 cobayes du deuxième groupe, 2 (éprouvés sous la peau du ventre) ne présentent aucun symptôme tétanique; les 4 autres (1, éprouvé sous la peau du ventre, 3 éprouvés dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et 1 seul (éprouvé dans les muscles de la cuisse) ne succombe pas au tétanos.

Cobayes éprouvés au bout de dix jours. — Des 6 cobayes du premier groupe, 4 (2 éprouvés sous la peau du ventre, 2 éprouvés dans les muscles de la cuisse) ne présentent que des symptômes tétaniques passagers; les 2 autres (1 éprouvé sous la peau du ventre, 1 éprouvé dans les muscles de la cuisse) sont pris de contractures et meurent de tétanos.

Les 6 cobayes du deuxième groupe succombent tous au tétanos.

Cobayes éprouvés au bout de quinze jours. — Les 6 cobayes du premier groupe et les 6 cobayes du deuxième groupe meurent de tétanos dans le même temps que les cobayes neufs servant de témoins.

Les expériences comparatives effectuées, d'une part sur des cobayes ayant reçu un pansement antitoxique, d'autre part sur

des cobayes ayant reçu par voie hypodermique une certaine quantité de sérum, montrent :

1° Que la vitesse d'absorption de l'antitoxine par la peau est assez rapide : dès la troisième heure après l'application du pansement antitoxique, le sérum des cobayes pansés contient déjà plus de $1/340$ d'unité antitoxique; au bout de six heures, le titre antitoxique du sérum est supérieur à $1/120$ d'unité; il ne dépasse pas $1/40$ d'unité au bout de vingt-quatre heures.

Ceci explique qu'un pansement antitoxique appliqué pendant six heures seulement sur la peau rasée du cobaye protège celui-ci presque aussi bien que s'il est laissé en place pendant douze ou vingt-quatre heures, comme nous l'avons montré au chapitre V.

La vitesse d'absorption de l'antitoxine introduite par voie sous-cutanée est plus rapide encore et la quantité d'antitoxine passant dans la circulation est aussi plus considérable, puisque le sérum des cobayes injectés contient plus d'une unité antitoxique par centimètre cube dès la troisième heure, plus de 3 unités dès la sixième heure et plus de 10 unités au bout de vingt-quatre heures.

2° Que le mode d'introduction de l'antitoxine n'influe pas sur la persistance de celle-ci dans l'organisme du cobaye. L'élimination se fait aussi rapidement, que l'antitoxine soit administrée en pansement ou par la voie sous-cutanée. Dans un cas comme dans l'autre, on ne trouve plus trace appréciable d'antitoxine au bout de quinze jours.

3° MODE D'ACTION DE L'ANTITOXINE PÉNÉTRANT DANS L'ORGANISME PAR DIFFÉRENTES VOIES, PERCUTANÉE, SOUS-CUTANÉE, INTRAMUSCULAIRE.

EXPÉRIENCE XLI. — 14 cobayes reçoivent dans les muscles de la cuisse droite la quantité de toxine tétanique représentant sûrement une dose mortelle.

Trois heures plus tard, 3 d'entre eux reçoivent sur la surface rasée de la cuisse droite un pansement au sérum antitétanique (900 unités antitoxiques); 3 reçoivent dans les muscles de la cuisse droite $1/100$ de centimètre cube de sérum antitétanique, soit 3 unités antitoxiques; 3 reçoivent dans les muscles de la cuisse gauche la même quantité du même sérum; 3 reçoivent sous la peau du ventre la même injection de sérum antitétanique.

2 cobayes sont laissés comme témoins et meurent de tétanos en trois jours.

Les 3 cobayes ayant eu un pansement sont pris de contractures et succombent au tétanos.

Les 3 cobayes ayant reçu l'injection de sérum dans la cuisse droite sont pris de contractures et l'un d'eux meurt de tétanos.

Les 3 cobayes ayant reçu l'injection de sérum dans la cuisse gauche et les 3 cobayes injectés sous la peau du ventre présentent des symptômes tétaniques graves et succombent au tétanos.

EXPÉRIENCE XLII. — 11 cobayes reçoivent dans les muscles de la cuisse droite une dose sûrement mortelle de toxine tétanique.

Trois heures plus tard, 9 d'entre eux reçoivent une injection de 1/10 de centimètre cube de sérum antitétanique — représentant 30 unités antitoxiques — soit dans les muscles de la cuisse droite (3 cobayes), soit dans les muscles de la cuisse gauche (3 cobayes), soit sous la peau du ventre (3 cobayes).

2 cobayes laissés comme témoins meurent de tétanos en trois jours.

Les 9 cobayes ayant reçu l'injection de sérum, quel que soit le lieu d'injection du sérum, sont pris de contractures, mais ne succombent pas au tétanos.

EXPÉRIENCE XLIII. — 14 cobayes reçoivent dans la cuisse droite une quantité de toxine tétanique qui amène la mort des 2 cobayes témoins en trois jours.

Trois heures plus tard, 3 reçoivent sur la surface rasée de la cuisse droite un pansement au sérum antitétanique (900 unités antitoxiques); 9 reçoivent une injection de 1 cent. cube de sérum antitétanique (300 unités antitoxiques), soit dans les muscles de la cuisse droite (3 cobayes), soit dans les muscles de la cuisse gauche (3 cobayes), soit sous la peau du ventre (3 cobayes).

Les 3 cobayes ayant eu le pansement antitoxique meurent de tétanos en quelques jours.

Les 9 cobayes ayant reçu l'injection de sérum, quel que soit le lieu d'injection du sérum, sont pris de contractures, mais ne succombent pas au tétanos.

EXPÉRIENCE XLIV. — 7 cobayes reçoivent sous la peau du ventre une quantité de toxine tétanique qui amène la mort du cobaye témoin en trois jours.

Trois heures plus tard, 6 d'entre eux reçoivent une injection de 1/10 de centimètre cube de sérum antitétanique — représentant 30 unités antitoxiques — soit sous la peau du ventre (3 cobayes), soit sous la peau de la cuisse droite (3 cobayes).

Des 3 cobayes ayant reçu sous la peau du ventre l'injection de sérum, l'un ne présente aucun symptôme tétanique, 2 sont pris de contractures et l'un d'eux succombe au tétanos.

Les 3 cobayes ayant reçu l'injection de sérum sous la peau de la cuisse droite sont pris de contractures et 2 d'entre eux meurent de tétanos.

EXPÉRIENCE XLV. — 11 cobayes reçoivent sous la peau du ventre la quantité de toxine tétanique représentant sûrement une dose mortelle.

Trois heures plus tard, on fait à 3 de ces cobayes et sur la peau rasée du ventre un pansement avec 3 cent. cubes de sérum antitétanique représentant 900 unités antitoxiques; 6 autres cobayes reçoivent une injection de 1 cent. cube de sérum antitétanique — représentant 300 unités antitoxiques —

soit sous la peau du ventre (3 cobayes), soit dans les muscles de la cuisse droite (3 cobayes).

Les 2 derniers cobayes constituent les témoins et meurent de tétanos le troisième jour.

Les 3 cobayes ayant reçu l'injection de sérum sous la peau du ventre ne présentent aucun symptôme tétanique.

Des 3 cobayes ayant reçu l'injection de sérum dans les muscles de la cuisse, 2 ont été pris de contractures, mais ne meurent pas.

De cette série d'expériences, il ressort que :

1° L'antitoxine, comme nous l'avons déjà mis en évidence, pénètre très difficilement à travers le tégument cutané de la cuisse. En effet, tous les cobayes ayant reçu une injection de toxine tétanique dans la cuisse ont succombé, malgré l'application sur la même cuisse et dans les heures qui suivirent d'un pansement antitétanique.

2° L'introduction de l'antitoxine tétanique par voie sous-cutanée se montre davantage opérante ; chez les petits animaux de laboratoire tels que le cobaye, cette introduction semble avoir une action meilleure vis-à-vis de l'intoxication lorsqu'elle est faite plus près du point de pénétration de la toxine, ce qui ne saurait surprendre.

Conclusions.

De l'ensemble des recherches que nous rapportons ici et qui ont été poursuivies durant plus d'une année sur un grand nombre d'animaux, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

La peau de l'animal d'expérience (cobaye) est capable, dans certaines conditions, d'absorber l'antitoxine du sérum appliqué à sa surface.

L'absorption de l'antitoxine par la peau subit des *fluctuations variées*, suivant les conditions de l'expérience (1), suivant les sujets, etc. Elle varie en particulier avec l'endroit du corps choisi pour l'application du sérum antitoxique ; si, par exemple, la peau du ventre du cobaye est capable de laisser pénétrer

(1) Même si ces conditions sont apparemment les mêmes. Deux expériences répétées de façon aussi identiques que possible donnent rarement les mêmes résultats.

l'antitoxine, celle de la cuisse du même animal est peu favorable à cette pénétration.

En ce qui concerne la peau du ventre du cobaye, l'absorption est d'autant plus manifeste que la surface d'application du sérum est plus étendue.

L'état du tégument intervient dans l'absorption de l'antitoxine. L'antitoxine est davantage absorbée par la peau fraîchement rasée ou épilée, et frictionnée à l'aide d'une substance provoquant une légère inflammation. L'absorption est pour ainsi dire nulle lorsque les poils ont été simplement coupés en évitant de blesser la peau.

Le mode d'application du sérum antitoxique — pansement au sérum, pommade, etc. — a, lui aussi, son influence sur l'absorption de l'antitoxine par la peau. Cette absorption est favorisée par l'addition au sérum de diverses substances : la glycérine par exemple.

L'absorption de l'antitoxine au niveau de la peau apparaît relativement minime lorsqu'on la rapporte à la dose de sérum mise en œuvre et à la surface d'application. Ainsi, *la quantité d'antitoxine absorbée par la peau du cobaye, dans les conditions qu'on peut qualifier d'optima, correspond à la millième partie au plus de la quantité totale employée; 999 parties sur 1000 sont perdues.* Soulignons que l'antitoxine pénètre de cette façon à l'état très dilué dans l'organisme du cobaye.

La vitesse d'absorption de l'antitoxine par la peau est assez rapide. Le renouvellement des applications de sérum antitoxique n'augmente pas sensiblement, dans les conditions de nos expériences, la proportion d'antitoxine absorbée.

De la comparaison faite chez le cobaye entre les différentes voies d'introduction, il résulte que, pour une même quantité d'antitoxine mise en jeu, *la portion absorbée par la peau et effective est considérablement moindre que celle introduite directement sous la peau, par exemple.* Que l'antitoxine soit absorbée par la peau ou injectée dans le tissu conjonctif sous-cutané, ou encore dans les muscles, sa persistance au lieu de pénétration, ou dans l'économie générale, et la rapidité de son élimination sont identiques. En réalité, il n'y a pas fixation de l'antitoxine à la porte d'entrée, il a seulement imprégnation passagère des tissus à l'endroit de pénétration, ce qui explique

qu'une dose de toxine d'épreuve, injectée très exactement au même endroit, subisse plus facilement, dans certains cas, une neutralisation qui se révèle plus ou moins complète d'ailleurs.

Toutes proportions gardées, le mode d'action de l'antitoxine introduite par les diverses voies d'accès dans l'organisme du cobaye reste le même. Entre l'effet de l'antitoxine introduite par l'une ou l'autre de ces voies, il n'y a pas de différence qualitative, mais seulement des différences quantitatives, le désavantage restant, à de nombreux points de vue, à la voie percutanée.

BIBLIOGRAPHIE

- BESREDKA : Immunisation locale, 1925.
 BESREDKA et NAKAGAWA : *C. R. Soc. de Biol.*, 2 juillet 1926.
 BESREDKA et NAKAGAWA : *Ces Annales*, juin 1927.
 BESREDKA : Antivirusthérapie, 1930.
 BESREDKA : *C. R. Soc. de Biol.*, 16 décembre 1932.
 BORY (L.) : *Clinique et Laboratoire*, 20 octobre 1931, p. 483.
 CALMETTE : *C. R. Acad. des Sciences*, 11 mai 1903, p. 1150.
 GERNEZ : *C. R. Soc. de Biol.*, Lille, 16 juin 1924.
 GERNEZ : Inoculation cutanée et défense de l'organisme, 1924.
 GERNEZ : De la cutivaccination à l'immunité, 1926.
 URBAIN : *Ces Annales*, juillet 1932.

PASSAGE A TRAVERS LA PEAU DES SUBSTANCES DU SÉRUM AUTRES QUE L'ANTITOXINE ET ANAPHYLAXIE

par R. RICHOU.

(Institut Pasteur, annexe de Garches.)

Dans un précédent mémoire, nous avons montré que l'antitoxine tétanique était capable de traverser le tégument cutané.

Dans le présent travail, nous avons recherché si les substances du sérum, autres que l'antitoxine, pénétrant à travers la peau, étaient capables de déclencher l'apparition des phénomènes anaphylactiques chez les animaux préparés et de provoquer elles-mêmes la sensibilisation.

Selon Besredka et Nakagawa, le sérum antitétanique employé en pansement ne peut, en aucun cas, provoquer d'accidents anaphylactiques. Nous-même, au cours de notre expérimentation, n'avons jamais constaté d'accidents de cette sorte. Ceci n'a rien d'étonnant d'ailleurs puisque, d'une part, la résorption lente du sérum (c'est le cas lors d'absorption cutanée) n'est pas favorable à l'apparition du choc anaphylactique et que, d'autre part, l'injection de 1 cent. cube et même de 2 cent. cubes de sérum sous la peau de cobayes préalablement sensibilisés ne déclenche pas forcément le phénomène de choc, comme nous avons pu nous en assurer.

Un certain nombre de cobayes ayant reçu sous la peau du ventre des quantités de sérum variant de $\frac{1}{300}$ de cent. cube à 1 cent. cube sont éprouvés, vingt-cinq jours plus tard, par voie hypodermique, avec 1 ou 2 cent. cubes de sérum. Aucun ne présente de symptômes anaphylactiques appréciables.

Toutefois, si le sérum introduit dans l'organisme par voie percutanée se montre impuissant à faire apparaître le choc anaphylactique, il résulte des expériences de Gernez, Golovanoff, Besredka, qu'il peut sensibiliser le cobaye au même

titre que le sérum introduit dans l'organisme par voie sous-cutanée.

D'après Gernez, par exemple, on obtiendrait de façon constante des accidents anaphylactiques graves (mortels dans 90 p. 100 des cas) en employant du sérum pur pour la friction sensibilisante, et en pratiquant l'injection déchaînante après un intervalle de vingt-cinq jours, à l'aide de doses de sérum voisines de 1 cent. cube.

Chez des cobayes sensibilisés par la voie percutanée à l'aide d'un pansement au sérum antitétanique, à la pommade antitétanique ou au sérum antitétanique glycérimé et éprouvés vingt à quarante jours plus tard par injection dans la veine jugulaire de 1/2 cent. cube à 1 cent. cube du même sérum, nous avons obtenu les résultats suivants :

FORME SOUS LAQUELLE LE SÉRUM a été employé en pansement	NOMBRE de cobayes éprouvés	AUCUN SYMPTÔME anaphylactique ou symptômes bénins	SYMPTÔMES graves mais non mortels	MORT PAR CHOC anaphylactique
Sérum antitétanique.	32	6	7	19
Pommade antitétanique. . . .	9	5	4	
Sérum glycérimé.	5	3	2	
Totaux.	46	14	13	19

Ainsi, introduit par la voie percutanée dans l'organisme de cobayes neufs, le sérum est bien capable de les sensibiliser vis-à-vis d'une injection sérique ultérieure. Sur 32 cobayes sensibilisés à l'aide d'un pansement au sérum pur, 19 ont succombé au choc anaphylactique, 7 ont présenté des symptômes anaphylactiques graves, 6 n'ont présenté aucun symptôme ou seulement des symptômes bénins, après l'injection sérique déchaînante.

Le sérum introduit par voie percutanée et qui se montre incapable de déclencher des phénomènes anaphylactiques peut-il, au contraire, désensibiliser des cobayes ayant reçu préalablement une injection sous-cutanée de sérum ou un pansement antitétanique? Alors que Gernez entrevoit la possi-

bilité de désensibiliser l'organisme par la voie percutanée, les résultats obtenus par Duthoit sont négatifs.

Nos propres essais ont porté sur 17 cobayes préalablement sensibilisés par une injection de sérum antitétanique ou par l'application, sur la peau rasée du ventre, d'un pansement au sérum antitétanique. Vingt à trente jours plus tard, ces cobayes reçoivent sur la surface fraîchement rasée du ventre un pansement au sérum antitétanique. Ils sont éprouvés le lendemain par injection dans la veine jugulaire de 0 cent. cube 5 à 1 cent. cube de sérum antitétanique.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-après :

MODE DE SENSIBILISATION	NOMBRE de cobayes éprouvés	AUCUN SYMPTÔME anaphylactique ou symptômes benins	SYMPTÔMES graves mais non mortels	MORT PAR CHOC anaphylactique
Injection sous-cutanée de sérum. . .	4		1	3
Pansement au sérum.	9	3	4	2

D'après ces essais, la désensibilisation par voie percutanée ne semble guère opérante.

De l'ensemble de nos expériences nous concluons qu'en dehors de l'antitoxine les autres substances du sérum traversant le tégument cutané sont capables de provoquer la sensibilisation de l'organisme, d'où la possibilité de troubles anaphylactiques ultérieurs lors d'injection sérique faite dans certaines conditions.

BIBLIOGRAPHIE

- BESREDKA et NAKAGAWA. Ces *Annales*, juin 1927.
 BESREDKA. *C. R. Soc. de Biologie*, 16 décembre 1932.
 DUTHOIT. *C. R. Soc. de Biologie*, 3 février 1933.
 GERNEZ, Inoculation cutanée et défense de l'organisme, 1924 ; De la cutivaccination à l'immunité, 1926.
 GOLOVANOFF. *C. R. Soc. de Biologie*, 15 janvier 1926.
 PIERRET et GERNEZ. *C. R. Soc. de Biologie*, 10 mars 1925.

GLOBULES ROUGES ET IMMUNITÉ,

par R. DUJARRIC de la RIVIÈRE et N. KOSSOVITCH.

Nos recherches sur les groupes sanguins, et particulièrement sur l'adsorption des agglutinines du sérum d'une espèce animale par les hématies d'autres espèces (1), nous ont amenés à penser que le phénomène d'adsorption par les globules rouges devait être assez général et que ces globules pourraient jouer dans l'immunité un rôle qui, pour n'être pas comparable à celui des globules blancs, ne serait cependant pas négligeable. Cette étude avait encore à nos yeux l'avantage de nous permettre d'apporter un exemple de plus à l'appui de la thèse que l'un de nous a développée ailleurs (2) et qui s'efforce de mettre en lumière l'aide que la chimie physique peut apporter à la bactériologie et à la sérologie.

Dans ce premier mémoire, nous apportons le résultat de nos recherches sur l'adsorption de certaines toxines ou anatoxines par les globules rouges et sur les propriétés antigéniques de l'hémoglobine.

I. — ADSORPTION DES TOXINES PAR LES GLOBULES ROUGES.

Les travaux de Conheim, Abderhalden, Pawlow et d'autres auteurs ont montré que les substances albuminoïdes passant par l'intestin se dédoublent et donnent naissance à des acides aminés qui y sont absorbés. Constantino, ayant remarqué qu'après la digestion les globules rouges contiennent plus d'acides aminés que le sérum sanguin, pensa que ce sont les globules rouges qui conduisent aux cellules de l'organisme les produits absorbés par l'intestin. Folin et Denis, Bach et Sbarski ont montré que les acides aminés introduits par la voie paren-

(1) Ces *Annales*, 45, n° 1, juillet 1930, p. 107-153.

(2) Bactériologie et chimie physique. *La Presse Médicale*, n° 12, février 1926. et Thèse de Sciences, Masson 1929.

térale disparaissent très vite de la circulation, au point que, quelques minutes après l'injection intraveineuse, on ne les trouve plus dans le sérum. N'en serait-il pas de même pour les toxines diphtérique et tétanique qui contiennent des produits de dédoublement des matières albuminoïdes? Nos recherches ont eu pour but de vérifier d'abord cette hypothèse.

EXPÉRIENCES *in vivo*. — Nous avons injecté à des lapins, par voie intraveineuse, des doses massives — jusqu'à 30 cent. cubes — de toxine diphtérique. Le lapin était saigné aubout de dix minutes et on recherchait, par inoculation au cobaye, la présence de toxine dans le sérum et dans les globules rouges. Le sérum était injecté directement, les globules étaient injectés : dans une expérience, après centrifugation et lavage à l'eau physiologique, dans une autre, après lyse à l'eau bidistillée stérile (ce liquide de lyse était injecté au cobaye à la dose d'au moins 5 cent. cubes). L'injection de sérum a toujours donné un résultat négatif. Avec les globules, le cobaye a succombé dans tous les cas et on constatait à l'autopsie les signes caractéristiques de l'intoxication diphtérique.

EXPÉRIENCES *in vitro*. — Le sang de divers animaux (homme, chimpanzé, *Macacus rhesus*, cheval, mouton, lapin, cobaye, rat, poulet, pigeon) était défibriné et les globules lavés quatre fois à l'eau physiologique. La purée globulaire ainsi obtenue était mélangée à des doses différentes de toxine diphtérique. Le temps de contact était de une heure à 37°, puis de trois heures à la température du laboratoire (un contact de trois heures à la glacière donnait les mêmes résultats). Au bout de ce temps de contact, les globules étaient traités comme précédemment : les uns lavés à l'eau physiologique, les autres lysés par l'eau bidistillée. L'eau physiologique ayant servi aux lavages, les globules lavés et le liquide de lyse étaient injectés à des cobayes. La mort est survenue dans les trois cas, aussi bien avec les globules qu'avec le liquide surnageant, lorsque la solution de toxine mise en contact avec les globules contenait quatre doses mortelles. Le liquide de lyse s'est montré le plus actif.

Afin de déterminer les conditions d'adsorption, nous avons fait varier les quantités de toxine et de globules. Pour la

toxine, nous avons constaté qu'au-dessus d'un minimum la quantité de doses mortelles était sans importance. Au contraire, la quantité de globules rouges nécessaire pour l'adsorption d'une dose de toxine suffisante pour tuer le cobaye est très variable suivant l'espèce considérée. Dans certains cas, il suffit de mettre en contact 1 cent. cube de purée globulaire avec 1 cent. cube de solution de toxine contenant quatre doses mortelles. Pour d'autres, la quantité de globules doit être sensiblement augmentée, par exemple :

Globules de rat :

1 cent. cube toxine (2 D.M.)	}	Survie.
1 cent. cube purée globulaire.		
2 cent. cubes toxine (4 D.M.)	}	Survie.
1 cent. cube purée globulaire.		
1 cent. cube toxine (2 D.M.)	}	Survie.
2 cent. cubes purée globulaire		
2 cent. cubes toxine (4 D.M.)	}	Mort en 10 jours.
2 cent. cubes globules		
2 cent. cubes toxine (4 D.M.)	}	Mort en 2 à 4 jours.
4 à 6 cent. cubes globules.		

L'affinité est différente suivant les animaux : l'homme, le chimpanzé, le mouton, le *Macacus rhesus*, le poulet, le pigeon ont presque la même affinité ; le cheval, le lapin, le cobaye, le mouton et le chien sont plus réfractaires ; le rat a été, dans nos expériences, l'animal le plus réfractaire. Il est possible que cette affinité conditionne la réceptivité à l'intoxication diphtérique.

Nous avons essayé de déterminer sur quelle partie du globule rouge se fixe la toxine : sur le stroma ou sur l'hémoglobine. Le sang ayant été défibriné et centrifugé, les globules rouges, préalablement lavés à quatre reprises à l'eau physiologique, sont lysés à l'aide d'une quantité minime d'eau distillée, versée lentement pour éviter la stromatolyse. On centrifuge et le culot de centrifugation est mis en contact, à l'étuve ou à la glacière, avec la toxine dans les conditions indiquées ci-dessus. Nous n'avons jamais constaté la présence de toxine dans les stroma, même en mélangeant à la toxine des quantités importantes de stroma (par exemple, la quantité provenant de 10 à

15 cent. cubes de globules). Seul le liquide de lyse, contenant l'hémoglobine, tuait le cobaye.

II. — GLOBULES ROUGES ET ANATOXINE TÉTANIQUE.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons cherché à préciser l'action d'une toxine sur des globules préalablement mis en contact avec l'anatoxine correspondante. Nous avons choisi la toxine tétanique — dont le pouvoir hémolytique est bien établi depuis les travaux de Madsen (1) — et l'anatoxine ou vaccin antitétanique de Ramon.

1° Essai du pouvoir hémolysant de la toxine tétanique employée. — Des globules rouges d'homme ou de cheval sont émulsionnés, à raison de 2,5 p. 100, dans de l'eau physiologique stérile et servent au dosage de la toxine, dosage que nous pratiquons en deux temps :

a) Des dilutions progressives de la toxine (1/2, 1/10, 1/100, 1/1.000, etc.) sont mises, sous un volume constant (1 cent. cube), au contact d'une quantité fixe (1 cent. cube) d'émulsion globulaire. On laisse au contact pendant trente minutes à la glacière, puis pendant trente minutes à l'étuve à 37°. On note à quelle dilution s'arrête l'hémolyse et un nouveau dosage plus démultiplié (par exemple de 1/2 à 1/10 ou de 1/10 à 1/20) permet une approximation plus rigoureuse de la dilution hémolysante *minima*.

b) Pour des toxines tétaniques dont le pouvoir hémolytique est faible, il faut étudier le pouvoir lytique de la toxine en partant de quantités faibles et progressivement croissantes de globules comme dans l'expérience suivante :

TABEAU I. — Toxine tétanique diluée à 50 p. 100.

Toxine (centimètre cube)	1	1	1	1	1
Emulsion de globules rouges (gouttes).	I	II	III	IV	V
Température 0° ou température ordinaire (mêmes résultats)	H	H	H partielle	0	0
Etuve 37°	H	II	H	H	0

H, veut dire hémolyse; 0, absence d'hémolyse.

(1) Th. MADSEN. *Zeitschr. für Hygiene*, 32, 1899, p. 214.

Mise dans les mêmes conditions en présence de globules rouges, la toxine diphtérique ne donne pas d'hémolyse.

Nous avons pu constater la perte du pouvoir hémolytique d'une toxine tétanique, mise à notre disposition par M. G. Loiseau et qui, ayant subi une pression de 15.000 atmosphères pendant quarante-cinq minutes, avait perdu son pouvoir toxique [J. Basset et M.-A. Machebœuf] (1).

2° *Etude de l'action de l'anatoxine.* — 1 cent. cube d'une émulsion de globules rouges (d'homme ou de cheval) sont mis au contact de 1 cent. cube d'anatoxine tétanique pendant vingt-quatre heures (une heure à la glacière et vingt-trois heures à la température du laboratoire). Au bout de ce temps, l'émulsion globulaire est divisée en deux parties : a) l'une est centrifugée, mais pas lavée; b) l'autre est centrifugée, puis lavée à deux ou trois reprises à l'eau physiologique. Dans les deux cas, on ajoute de l'eau physiologique de façon à obtenir une émulsion à 2,5 p. 100. On met ensuite au contact avec de la toxine tétanique, comme on le fait avec des globules non préparés dans les expériences de dosage. Voici comment les globules se sont comportés dans les deux cas :

TABLEAU II. — Globules-anatoxine après centrifugation, sans lavage.

Toxine (centimètre cube)	1	1	1	1
Globules + anatoxine centrifugés, non lavés (gouttes)	II	IV	VI	VIII
Température ordinaire	0	0	0	0
Etuve à 37°	0	0	0	0
(pas d'hémolyse).				

TABLEAU III. — Globules-anatoxine, après plusieurs lavages.

Toxine (centimètre cube)	1	1	1	1
Globules + anatoxine lavés plusieurs fois (gouttes)	II	IV	VI	VIII
Température ordinaire	H	0	0	0
Etuve à 37°	H	H	0	0

Nous avons fait des témoins (eau physiologique et bouillon formolés à 5 p. 1.000) pour nous assurer que la quantité de

(1) C. R. de l'Acad. des Sciences, 27 décembre 1932 et 3 janvier 1933.

formol existant dans l'anatoxine ne pouvait expliquer la protection des globules contre l'hémolyse constatée dans l'expérience du tableau III.

Th. Madsen avait montré que des globules rouges qui ont adsorbé de la toxine tétanique (par contact à basse température) et que l'on traite ensuite à froid par du sérum antitoxique restent intacts lorsqu'on les transporte à l'étuve à 37°. Les expériences de Madsen que nous avons répétées, toujours avec succès, montrent que le sérum antitétanique « guérirait » en quelque sorte les globules de leur fragilité vis-à-vis de la toxine tétanique. Nos expériences tendraient à prouver que l'anatoxine préserve les globules de l'action de la toxine. Dans les expériences de Madsen on met les globules « neufs » au contact de la toxine pendant un certain temps, puis on ajoute le sérum au mélange ; dans nos expériences, les globules « neufs » sont mis au contact de l'anatoxine et ultérieurement de la toxine.

Enfin, nous avons voulu voir comment se comporteraient, non plus vis-à-vis de la toxine, mais vis-à-vis du sérum antitétanique, les globules préalablement soumis à l'action de l'anatoxine tétanique. Nous avons constaté que, pour certains sérums antitétaniques (nous avons utilisé le sérum de plusieurs chevaux qui étaient en cours d'immunisation) et, dans certaines conditions d'expériences, l'addition du sérum déterminait l'hémolyse des globules préalablement mis au contact (comme dans la technique précédente) de l'anatoxine tétanique

Voici, par exemple, les résultats d'une expérience :

TABLEAU IV.

Sérum antitétanique dilué à	1/2	1/4	1/6	1/8	1/10
Globules rouges + anatoxine, en émulsion (centimètre cube)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Température ordinaire	0	0	0	0	0
Etuve à 37°	H	H	H	H	H

Dans les mêmes conditions d'expérience, nous n'avons jamais constaté d'hémolyse en mettant du sérum antidiphtérique en présence de globules rouges ayant subi le contact de l'anatoxine diphtérique.

III. — PROPRIÉTÉS ANTIGÉNIQUES DE L'HÉMOGLOBINE.

Ayant ainsi précisé le rôle du phénomène d'adsorption, il nous a paru intéressant, pour compléter l'étude du rôle des globules rouges dans l'immunité, de chercher si l'hémoglobine a la valeur d'un antigène.

On a admis pendant longtemps que les propriétés antigéniques n'appartiennent qu'aux albumines. Landsteiner montra, en 1923, que les lipoides peuvent présenter ces propriétés lorsqu'ils sont introduits dans un organisme animal en même temps que des albumines étrangères à cet organisme; Nozu, de Tokio, trouva des propriétés antigéniques dans les amidons des plantes, et Ikeda dans le glycogène.

En ce qui concerne les propriétés antigéniques de l'hémoglobine, les auteurs qui ont étudié la question ont émis des opinions contradictoires.

Nolf (1), Leblanc (2), Stewart (3), Klein (4), Leers (5), Hectén et Schulhof (6), Higashi (7) ont soutenu l'existence de ces propriétés. Mais, d'accord sur le principe, ces auteurs diffèrent d'opinion sur l'étendue et les modalités du pouvoir antigénique de l'hémoglobine. Les uns (Nolf, Stewart) admettent que les injections d'hémoglobine provoquent chez l'animal la formation d'hémolysines; d'autres, au contraire (Leblanc, Demees), nient la formation d'hémolysines et soutiennent que l'immunisation provoque seulement la formation de précipitines. Enfin, Higashi insiste sur la production de substances anaphylactisantes.

Un certain nombre de travaux, parus dans ces dernières années, tendraient à infirmer l'opinion des auteurs dont nous venons de parler. Chodat (8), Depla (9), Schmidt et Bennet (10),

(1) *Ces Annales*, 1900.

(2) « *La Cellule* », 18, 337.

(3) *Amer. Journ. Physiol.*, 11, 250.

(4) *Wien. Kl. Woch.*, 18, 1905, p. 1053.

(5) *Central. Bakt., Orig.* 54, p. 462.

(6) *Journ. Inf. Diseases*, 1922 et 1924.

(7) *Mitt. d. med. Ges. zu Tokio in: Centrbl.*, 74, 1922.

(8) *C. R. Soc. Biol.*, 85, 1921, p. 735.

(9) *C. R. Soc. de Biologie*, 87, 1922, p. 383.

(10) *Journ. of biol. Chem.*, 18, 1917, p. 497.

Browning et Wilson (1) ont conclu de leurs expériences que l'hémoglobine n'a aucune propriété antigénique, car, l'ayant inoculée à des animaux, ils n'ont obtenu ni agglutinine, ni précipitine, ni hémolysine. Si bien que Robertson, dans la dernière édition de ses *Principles of Biochemistry*, émet l'avis que la question des propriétés antigéniques de l'hémoglobine n'est pas encore au point.

A la suite de nos premiers essais, il nous est apparu que les divergences d'opinion pouvaient provenir du fait que les auteurs ont employé des produits très divers, que le mode de préparation de l'hémoglobine doit jouer un rôle très important et qu'il est indispensable d'employer cette substance à l'état cristallisé. Du reste, Landsteiner et Heidelberger (2) qui, contrairement aux auteurs précédents, ont employé de l'hémoglobine cristallisée pour l'immunisation des animaux, ont obtenu la formation d'anticorps. Comme nous allons l'indiquer, nous avons employé, pour nos expériences, une hémoglobine ayant subi trois cristallisations successives.

PRÉPARATION DE L'HÉMOGLOBINE. — Nous avons utilisé du sang de cheval et du sang de chien (3).

Le sang recueilli par ponction veineuse (chez le cheval) ou par saignée à blanc (chez le chien) est défibriné mécaniquement, puis centrifugé.

Les hématies sont lavées de cinq à huit fois à l'eau physiologique. Après le dernier lavage, la purée globulaire est versée dans un entonnoir à décantation pour séparer les érythrocytes.

Pour l'hémolyse, nous avons employé de l'eau distillée tiède (25°) et en quantité minime, juste nécessaire pour que l'hémolyse soit complète.

Pour séparer le stroma de l'hémoglobine, nous avons employé la technique de Hoppe-Seyler (4) :

Au liquide d'hémolyse, on ajoute un demi-volume d'éther sulfurique. On mélange dans l'entonnoir à décantation très

(1) *Journ. Immun.*, 1926, p. 417.

(2) *Journ. Exp. Med.*, 38, 1923, p. 561.

(3) Nous tenons à remercier M. le Professeur Binet qui, très aimablement, a bien voulu nous procurer du sang de chien.

(4) Et aussi les indications de M. Vila, de l'Institut Pasteur, que nous remercions bien vivement.

soigneusement pendant cinq à dix minutes. On centrifuge fortement ou, plus simplement, on laisse au repos dans l'entonnoir pendant douze à vingt-quatre heures. Les stroma sont entraînés par l'éther à la surface tandis que l'hémoglobine descend à la partie inférieure. Il est alors facile de faire la séparation par simple décantation. On répète la même opération en ajoutant une nouvelle quantité d'éther à la solution d'hémoglobine ainsi isolée et on finit par éliminer complètement les stroma.

On se débarrasse ensuite de l'éther en mettant la solution dans une cloche à vide (avec de l'acide sulfurique ou de la chaux) pendant douze à dix-huit heures. Au bout de ce temps, on ajoute un quart de volume d'alcool en le versant goutte à goutte; on place le mélange sur la glace et on l'y laisse pendant vingt-quatre heures.

Les cristaux qui se sont formés sont séparés par centrifugation à très faible vitesse puis dissous dans une petite quantité d'eau distillée à la température de l'étuve.

On répète à trois reprises cette technique de cristallisation. A la troisième opération les cristaux ne sont pas repris par l'eau, mais pulvérisés. L'hémoglobine ainsi obtenue est conservée au frais et à l'abri de la lumière.

EXPÉRIENCES. — Avec l'hémoglobine ainsi préparée, nous avons inoculé des lapins. Nous injectons chaque fois 2 cent. cubes à 2 c. c. 5 d'une solution au 1/10, soit 0 gr. 2 à 0 gr. 25 d'hémoglobine cristallisée. Pour obtenir les résultats dont nous allons parler, 12 à 15 injections intraveineuses ont été indispensables. Les animaux étaient saignés, en moyenne, quatre jours après la dernière injection.

Pour mettre en évidence la présence d'anticorps dans le sérum des lapins ainsi immunisés, nous avons utilisé diverses techniques.

1° *Hémolysines*. — Nous n'avons jamais pu mettre en évidence la présence d'hémolysines dans le sérum des lapins que nous avons immunisés avec de l'hémoglobine. Par exemple, le sérum des lapins immunisés avec l'hémoglobine de cheval ne possédait d'hémolysines ni pour les globules de cheval en général, ni pour les globules du cheval dont le sang avait

fourni l'hémoglobine employée pour les essais d'immunisation.

2° *Réaction de précipitation.* — Voici, à titre d'exemple, le dispositif et les résultats d'une expérience :

TABLEAU V.

	VOLUME en c.c.	DILUTIONS DE L'HÉMOGLOBINE					
		1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/200
Hémoglobine	0,5	1/10	1/20	1/40	1/50	1/100	1/200
Sérum dilué au 1/2. . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Lapin 88		++	+	±	—	—	—
Lapin 89		++	+	—	—	—	—
Lapin 90		++	+	+	±	—	—

En une à trois heures d'étuve, le précipité est très visible.

Le chauffage à 56° (au bain-marie) pendant trente minutes ne fait pas disparaître le pouvoir précipitant du sérum.

3° *Déviatiou du complément.* — C'est la méthode qui nous a donné les résultats les plus nets et les plus constants. Mais il est indispensable que tous les éléments de la réaction (complément, sensibilisatrice) soient rigoureusement titrés. Nous avons employé des doses progressivement croissantes de complément et voici les résultats moyens auxquels nous sommes arrivés (14 lapins) :

Antigène : hémoglobine au 1/20, en centimètre cube.	0,1
Sérum chauffé de lapin immunisé, en centimètre cube.	0,2

Complément (dilué au 1/10) aux doses de :

0,1	Pas d'hémolyse.
0,2	Pas d'hémolyse.
0,3	Pas d'hémolyse.
0,5	Pas d'hémolyse.
0,5	Hémolyse.

A titre de contrôle :

Sérum seul : hémolyse.

Antigène seul : hémolyse.

Les anticorps dont nous venons de parler sont rigoureusement spécifiques. Le sérum d'un lapin, immunisé avec de l'hémoglobine de cheval, donne des réactions de précipitation

et de fixation du complément avec l'hémoglobine de cheval et n'en donne pas avec celle, par exemple, de chien, d'anguille, de poule, de pigeon. Inversement, le sérum de ces animaux ne donne rien avec l'hémoglobine de cheval.

CONCLUSIONS.

Les globules rouges adsorbent la toxine diphtérique; le pouvoir adsorbant des globules varie avec l'espèce animale considérée; les stroma globulaires ne fixent pas ou fixent en quantité minime la toxine.

L'anatoxine tétanique fixée sur les globules rouges les préserve de l'action de la toxine correspondante.

Le sérum des animaux immunisés avec une hémoglobine qui a subi plusieurs cristallisations successives possède des anticorps qui correspondent à l'antigène et qui sont rigoureusement spécifiques.

EFFETS DES INJECTIONS DE BCG SUR L'ÉVOLUTION DE LA TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE

(*Section d'Anatomie pathologique de l'Institut des Sciences pratiques de la protection de la mère et de l'enfant : Directeur professeur : I. A. MENDELEFF; consultant : professeur E. A. GRANDSTRÖM.*)

par I. M. LÉVITAN et D. D. LOKHOFF (privat-docent).

Depuis 1928 nous poursuivons une série d'expériences sur l'effet des injections de BCG sur la tuberculose expérimentale.

Pendant ce temps nous avons fait beaucoup d'expériences sur un grand nombre d'animaux; les résultats obtenus dans la première série ont été publiés en 1931 (1). Ces expériences ont prouvé la parfaite innocuité du BCG pour les animaux tuberculeux, et ses effets favorables puisqu'il ralentit le processus tuberculeux et modifie dans une certaine mesure les réactions des tissus. Tous ces résultats nous ont porté à espérer que l'emploi prudent du BCG pouvait avoir une influence utile sur certaines formes de tuberculose chez l'homme.

Mais avant de procéder à une telle application pratique, nous avons voulu contrôler sévèrement nos données sur le matériel expérimental.

Dans nos premières recherches d'orientation, nous avons employé des doses massives de virus d'épreuve, et ensuite, tardivement, le BCG, alors que l'évolution de la tuberculose virulente était déjà très avancée.

Dans le présent travail, nous avons utilisé de faibles doses de virus tuberculeux virulent, afin d'obtenir un développement plus lent du processus, et nous avons fait intervenir le BCG plus précocement.

(1) Ces *Annales*, 47, novembre 1931, p. 484.

La nombreuse bibliographie consacrée à ce sujet témoigne qu'au cours de ces dernières années, l'immense majorité de ceux qui se sont occupés du BCG sont d'accord pour admettre qu'il est parfaitement inoffensif, que sa virulence ne peut être augmentée dans toutes les conditions d'expérimentation et qu'il a probablement une importance prophylactique; mais nous n'avons que des observations peu nombreuses quant au sujet qui nous intéresse.

Ainsi, outre les travaux déjà mentionnés de Sorgo, Mendel et Lichtwitz qui ont fait usage du BCG dans le traitement de malades tuberculeux, en ces dernières années nous relevons ceux de Radossavliévitch, Stanovévitch, etc., qui ont tenté de traiter différentes formes de tuberculose par des injections répétées de BCG, observant une amélioration certaine dans certains cas, alors que le plus souvent ces injections n'ont produit aucun effet; mais jamais on n'a observé d'aggravation. Les auteurs de ces travaux en tirent la conclusion que l'action du BCG ne diffère en rien de l'action de la tuberculine de Koch. Ils mentionnent leurs peu nombreuses expériences sur des cobayes infectés de tuberculose, chez lesquels le BCG n'a modifié en aucune manière l'évolution de la tuberculose expérimentale. La réaction locale, après les injections par voie sous-cutanée, ne différerait en rien de la réaction provoquée par la tuberculine. Cependant il nous semble que le matériel si restreint sur lequel ont porté ces observations (9 cobayes) ne permet pas de tirer de conclusions définitives.

Nous avons utilisé pour nos expériences une culture de tuberculose humaine, préalablement contrôlée sur 12 cobayes, cette culture nous ayant donné des lésions peu marquées chez les animaux sacrifiés au vingtième jour, à la dose de 1/10.000 de milligramme, mais cependant très manifestes. Avec les doses plus faibles encore les lésions après le même délai n'étaient pas constantes. Nous avons choisi cette dose de 1/10.000 de milligramme par voie intrapéritonéale pour les cobayes; 2 milligrammes pour les lapins par voie intraveineuse. Nous avons constamment employé la même culture dans toutes nos expériences, et celles-ci ont porté sur 36 cobayes et 27 lapins. Tous ces animaux, jeunes, élevés par nous, ont été éprouvés par le Pirquet (réaction négative) et soumis pen-

dant deux mois à un examen clinique. 3 cobayes et 2 lapins sont morts de causes diverses.

Nous avons divisé nos animaux en deux groupes : le groupe témoin et le groupe à traiter.

Pour nos expériences de contrôle, nous avons utilisé 11 cobayes du poids d'environ 400 grammes, infectés par voie intrapéritonéale avec la culture indiquée précédemment à la même dose de 1/10.000 de milligramme. Les premiers symptômes cliniques de la maladie furent observés au quarante-cinquième jour : élévation de température à caractère hectique se maintenant presque jusqu'à la mort; en même temps nous avons observé des frissons, une apathie générale, de la toux, du manque d'appétit et, dans quelques cas, de la cachexie.

L'intradermo-réaction de Mantoux 1 : 100, 1 : 1.000, faite au quarante-quatrième jour après l'infection, était nettement positive dans la majorité des cas.

Le poids des animaux, suivant leur âge, diminuait peu s'ils continuaient à grandir, ou bien s'abaissait graduellement, en moyenne de 100 grammes jusqu'à la mort.

Les décès par tuberculose se sont produits à des échéances différentes du quatre-vingt-unième au cent trente-quatrième jour (Tableau I), autrement dit la durée de la survie fut en moyenne de cent onze jours.

TABLEAU I. — Cobayes infectés de tuberculose (témoins).

NUMÉRO des cobayes	MODE D'INFECTION	DOSES EMPLOYÉES en milligramme	DURÉE de la survie après l'infection en jours
157.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	94
159.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	121
160.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	102
169.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	81
172.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	127
173.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	81
174.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	109
175.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	122
176.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	127
182.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	134
183.	Voie intrapéritonéale.	1/10.000	134
11 cobayes. . .			1.232
Durée moyenne de la survie.			70 jours.

A l'autopsie du groupe-témoin de cobayes nous avons constaté une tuberculose généralisée du type habituel, à altérations très nettes dans 76 p. 100 des cas, à altérations moyennes dans 24 p. 100 des cas. Les organes les plus atteints étaient les poumons, la rate, le foie et le mésentère.

Poumons : pneumonie tuberculeuse à grosses cellules d'exsudation, parfois accompagnée de nécrose. Le plus souvent prolifération du tissu conjonctif pulmonaire, très étendue chez 1/4 des animaux et offrant l'aspect caractéristique de la sclérose.

Dans quelques cas nous avons trouvé des altérations nécrotiques du foie, chez 1/4 des animaux, ce qui tient peut-être à leur plus longue survie. Dans le tissu périportal, développement de tissu à granulations spécifiques, à grosses cellules, accompagné dans la moitié des cas de sclérose nettement caractérisée. En règle générale, avec la sclérose on trouvait des petits canaux biliaires de nouvelle formation; parfois des phénomènes de régénération des cellules hépatiques.

Rate toujours altérée, déjà macroscopiquement, avec augmentation de volume d'environ 14 grammes. Au microscope, toute sa configuration était modifiée, à cause d'une prolifération intense des grosses cellules du tissu réticulo-endothélial. Chez la moitié des animaux, elle présentait de gros foyers nécrotiques.

Peu de modifications dans les autres organes, à l'exception du mésentère qui offrait l'aspect habituel aux infections péritonéales.

Au deuxième groupe se rattache un lot de 22 cobayes de même âge et de même poids que ceux du groupe témoin et infectés avec une culture dérivée de la première et aux mêmes doses.

Nous avons commencé les inoculations de vaccin cinq jours après l'infection avec 1/500 de milligramme d'une culture de BCG. Ces injections étaient répétées tous les cinq jours et chaque cobaye en a reçu de 10 à 35. On n'a pu noter aucune différence dans le cours de la maladie ni dans la réaction de Mantoux par rapport au groupe précédent. Aucune réaction locale après la première injection de BCG; mais, après les injections suivantes, chez une partie des animaux il s'est pro-

duit une infiltration dure, persistant de dix à vingt jours et disparaissant ensuite sans laisser de trace. Quelques animaux nous ont paru plus apathiques qu'à l'ordinaire durant un ou deux jours. Tous les animaux sont morts de tuberculose entre le soixante-douzième et le deux cent quatre-vingtième jour après l'infection, la durée moyenne de leur survie par rapport aux témoins non traités étant de cent vingt-cinq jours.

En somme, le deuxième groupe a eu une survie d'environ deux semaines par rapport au premier groupe. Il faut noter que, dans le groupe témoin, aucun animal n'a survécu plus de cent trente-quatre jours, tandis que dans le groupe vacciné nous avons eu des cobayes ayant survécu deux cent quatre vingt, cent quatre-vingt-neuf et cent soixante-quatorze jours (Tableau II).

TABLEAU II. — Cobayes infectés de tuberculose et traités par le BCG.

NUMÉRO des cobayes	INFECTION		TRAITEMENT		DURÉE de la survie après l'infection en jours
	Mode	Doses en milligramme	Mode	Doses en milligramme	
136.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	85
137.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	174
138.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	129
139.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	91
140.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	161
141.	Intrapéritonéal.	1/10.100	Sous-cutané.	1/500	72
142.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	85
143.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	79
144.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	151
145.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/500	111
147.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	104
148.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	104
150.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	122
151.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	111
152.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	147
153.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	111
170.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	89
171.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	182
178.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	230
179.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	96
180.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	74
181.	Intrapéritonéal.	1/10.000	Sous-cutané.	1/5.000	189
22 cobayes.					2.747
Durée moyenne de la survie					125 jours.

A l'autopsie nous avons constaté les mêmes lésions de tuberculose généralisée, mais différant de celles du groupe témoin en ce qu'il n'existait d'altérations graves que chez 50 p. 100 des animaux (76 p. 100 dans l'autre groupe); des altérations moyennes chez 45 p. 100; des altérations légères chez 5 p. 100. Les organes les plus atteints étaient les poumons, le foie, la rate et le mésentère.

L'examen microscopique des poumons nous a révélé de la pneumonie tuberculeuse, différant par sa localisation de celle observée dans le groupe témoin, s'accompagnant assez souvent de prolifération du tissu conjonctif pulmonaire. Par comparaison avec le groupe témoin, nous avons plus souvent observé cette réaction de sclérose caractérisée chez les traités : 45 p. 100 chez les témoins, 52 p. 100 chez les traités. Il y avait absence complète de sclérose chez 25 p. 100 des témoins et chez 16 p. 100 seulement des traités.

Les altérations cirrhotiques du foie étaient également plus marquées chez les traités et la différence était même beaucoup plus nette que dans les poumons : 85 p. 100 contre 25 p. 100; et la prolifération du tissu conjonctif était nulle chez 50 p. 100 des témoins alors qu'elle n'était nulle que chez 15 p. 100 des traités.

Dans les cirrhoses très prononcées, le foie était à tel point modifié qu'il ne restait qu'une part infime de parenchyme indemne. Quant à la rate, nous n'avons pas trouvé de différence caractéristique entre les deux groupes.

Les lapins utilisés dans nos expériences ont été également élevés par nous. Nous avons choisi 8 lapins pour le groupe témoin et 17 pour le second groupe. Le poids dans les deux groupes variait de 2.600 à 3.200 grammes. Les animaux furent tous soumis à la réaction de Pirquet, qui se montra négative.

Les deux groupes furent infectés simultanément avec la même culture (*T. humanus*) par voie intraveineuse à la dose de 2 milligrammes. Les injections de BCG furent commencées sept jours après l'infection pour le groupe témoin et répétées toutes les deux semaines. Nous avons injecté la culture de BCG par voie intraveineuse à une partie des animaux à la dose de 1/100 de milligramme et chez les autres par voie sous-cutanée

à la dose de 1/100 de milligramme. Le nombre d'injections a varié entre 12 et 20. Dans les deux groupes le tableau clinique fut identique : aucun trouble de l'état général; aucune réaction thermique. Nous n'avons presque pas noté de déperdition de poids et ne l'avons observée que vers les huitième, dixième mois après l'infection. Dans les deux groupes également nous avons relevé quelques cas de tuberculose oculaire.

L'intradermo-réaction de Mantoux, pratiquée deux mois après l'infection (doses de 1 : 100 et 1 : 1000 de tuberculine) s'est montrée négative dans la majorité des cas. A partir du cinquième mois la réaction s'est révélée positive chez 60 p. 100 des animaux et dans les deux groupes.

Quelques lapins ont été éprouvés dans leur santé générale pendant les deux jours qui suivaient l'injection du BCG. Nous n'avons observé aucune réaction locale après les injections sous-cutanées. La plupart des animaux sont morts de tuberculose dans des délais variant entre cent soixante-dix-neuf et six cent vingt-six jours, la durée moyenne de la survie étant de deux cent quarante-neuf jours pour le groupe témoin et de trois cent vingt-cinq pour les traités (Tableaux III et IV). Dans le groupe témoin, 2 lapins ont survécu et furent sacrifiés. Dans le second groupe 4 ont survécu et furent également sacrifiés.

TABLEAU III. — Lapins infectés de tuberculose (témoins).

NUMÉRO DES LAPINS	INFECTION		DURÉE de la survie après l'infection en jours
	Mode	Doses en milligrammes	
43	Intra-veineux.	2	294
44	Intra-veineux.	2	267
45	Intra-veineux.	2	280
47	Intra-veineux.	2	267
48	Intra-veineux.	2	304
57	Intra-veineux.	2	29
67	Intra-veineux.	2	304
7 lapins			1.745
Durée moyenne de la survie			249 jours.

A l'autopsie les poumons de ces animaux présentaient habituellement des altérations pneumoniques différant dans leur étendue, assez souvent accompagnées de lésions nécrotiques et de tubercules disséminés, assez volumineux. Les reins étaient profondément atteints, soit sous forme de tubercules disséminés, soit sous forme de dégénérescence caséuse atteignant de préférence la zone médullaire. Les plus grosses altérations et les plus fréquentes ont été observées dans le second groupe, celui des traités, surtout chez les animaux, ayant survécu plus de trois cents jours.

TABLEAU IV. — Lapins infectés de tuberculose, puis traités avec le BCG.

NUMÉRO des lapins	INFECTION		TRAITEMENT		DURÉE de la survie après l'infection en jours
	Mode	Doses en milligrammes	Mode	Doses en milligramme	
49	Intra-veineux.	2	Sous-cutané.	1/100	300
50	Intra-veineux.	2	Sous-cutané.	1/100	356
52	Intra-veineux.	2	Sous-cutané.	1/100	357
54	Intra-veineux.	2	Sous-cutané.	1/100	342
55	Intra-veineux.	2	Intra-veineux.	1/100	225
56	Intra-veineux.	2	Intra-veineux.	1/100	302
58	Intra-veineux.	2	Intra-veineux.	1/100	263
61	Intra-veineux.	2	Sous-cutané.	1/100	179
62	Intra-veineux.	2	Intra-veineux.	1/100	517
63	Intra-veineux.	2	Intra-veineux.	1/100	347
64	Intra-veineux.	2	Intra-veineux.	1/100	434
65	Intra-veineux.	2	Sous-cutané.	1/100	273
12 lapins. .					3.895
Durée moyenne de la survie					325 jours.

Le tableau *microscopique* n'a pas davantage montré de grandes différences entre les deux groupes. Seule la rate accusait une hyperplasie plus nette des cellules réticulo-endothéliales de la pulpe chez les animaux du second groupe. Aucun cas de nécrose, alors qu'on notait celle-ci chez 50 p. 100 des animaux du groupe témoin. Les altérations des reins étaient identiques dans les deux groupes. Chez plus de la moitié des traités nous avons observé des foyers nécrotiques de ratatinement de l'organe.

CONCLUSIONS.

Nos derniers travaux et ceux que nous avons précédemment publiés nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° Les injections répétées de BCG par voie sous-cutanée et par voie intraveineuse chez les animaux infectés de tuberculose ne provoquent aucune aggravation du processus tuberculeux.

2° Ces injections n'ont jamais donné lieu au « phénomène de Koch » ;

3° Les effets du BCG sur l'organisme tuberculeux diffèrent probablement de ceux de la tuberculine ;

4° En règle générale, des animaux traités vivent plus longtemps que les témoins ;

5° Cette prolongation de la survie est surtout nette dans les infections réalisées avec des doses relativement fortes de culture de tuberculose virulente ; les infections avec de petites doses (comme celles effectuées dans le présent travail) qui entraînent une évolution très lente du processus tuberculeux chez les témoins ne permettent pas de saisir de différences aussi marquées ; cependant, aucun cobaye du groupe témoin n'a présenté une survie plus longue qu'aucun des animaux du groupe des traités.

Cette constatation est encore plus nette chez les lapins ;

6° Le traitement par le BCG n'a pas arrêté l'évolution de la tuberculose chez les lapins et les cobayes (comme nous le pensions), mais nos observations nécropsiques et le fait que les traités ont une survie plus longue démontre que, chez eux, il se produit un certain ralentissement du processus tuberculeux.

7° L'examen microscopique révèle, comme nous l'avons indiqué dans nos précédents travaux, des modifications dans les réactions des tissus. Celles-ci se traduisent par une prédominance du tissu conjonctif fibreux dans les organes des animaux traités, plus particulièrement visible dans les poumons et le foie des cobayes.

Nous avons également noté une réaction hyperplasique plus nette dans le tissu réticulo-endothélial de la rate chez les traités.

8° On ne peut pas encore affirmer que les inoculations de BCG ont des effets vraiment utiles dans la thérapeutique de la tuberculose, mais étant donnée leur parfaite innocuité, on peut certainement les utiliser au même titre que la tuberculine et il semble bien qu'elles peuvent exercer une action favorable dans certaines formes de la maladie, comme l'ont déjà signalé certains auteurs.

SUR L'ÉVOLUTION DE L'ULTRAVIRUS TYPHIQUE DANS L'ORGANISME ANIMAL

par G. SANARELLI et A. ALESSANDRINI.

(*Institut d'Hygiène de l'Université de Rome.*)

Dans deux notes successives (1), nous avons démontré que le virus typhique et le virus paratyphique (notre *B. icteroides* étant considéré comme appartenant au groupe des paratyphiques) peuvent s'ultrafiltrer *in vitro* et *in vivo* à travers les parois des sacs de collodion.

En ce qui concerne la filtration *in vitro* du bacille éberthien et du bacille ictéroïde, nous n'avons rien à ajouter à ce que nous avons dit dans les notes susdites.

Ces deux espèces microbiennes peuvent donner origine, dans les circonstances décrites par nous, à des éléments capables de filtrer à travers les espaces intermicellaires des ultrafiltres de collodion, reconstituant les formes bacillaires respectives dans les milieux nutritifs où ils viennent de se trouver.

A l'égard du *B. icteroides* — doué maintenant encore de grande virulence — nous avons pu, en outre, démontrer que son ultravirus, sorti à travers les parois des sacs de collodion placés dans le péritoine d'un animal sensible (lapin), peut non seulement conférer des taux élevés d'agglutination spécifique au sérum sanguin, mais aussi, dans quelques cas, reprendre, dans les tissus de l'animal, sa forme bactérienne visible et sa haute virulence, déterminant le caractéristique processus septicémique à issue mortelle.

On a donc, dans ce cas, la possibilité de suivre, dans peu de jours, *in vitro* et chez l'organisme vivant, l'évolution du cycle biologique complet d'un microbe fort pathogène, facile à cul-

(1) L'ultravirus typhique. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1931, 108, p. 405; et L'ultravirus paratyphique. *Ibidem*, p. 460.

tiver et duquel on peut aisément mettre en évidence les éléments ultrafiltrables sans avoir recours à des artifices, comme par exemple la lyse bactériophagique.

En ce qui concerne le bacille typhique — dont on discute depuis quelques années l'existence d'une phase filtrable — nous avons de même réussi à constater le passage de son ultravirus à travers les membranes de nos sacs, soit *in vitro*, soit au moyen des doubles sacs placés dans le péritoine des lapins (1).

Mais nos essais pour obtenir avec le bacille typhique ce que nous avons déjà obtenu avec le *B. icteroides* — savoir le passage de ses éléments invisibles à travers les parois des sacs de collodion placés dans le péritoine, la reconstitution successive des formes bacillaires visibles et, par conséquent, l'infection de l'animal porteur des sacs, ont longtemps échoué.

Ces insuccès relevaient très probablement de la faible activité pathogène du bacille typhique vis-à-vis du lapin. En outre, on doit tenir compte du fait — signalé déjà par nous dans les notes citées — que les cultures dérivées de l'ultravirus typhique et paratyphique se trouvent déjà notablement affaiblies dans leurs propriétés biologiques et pathogènes, en comparaison des cultures respectives originelles.

On remarque le même fait — comme on le sait — à l'égard de l'ultravirus tuberculeux.

D'abord, nous avons essayé de surmonter cette difficulté en ayant recours au procédé indiqué par l'un de nous il y a bien des années (2), c'est-à-dire au passage du bacille typhique à travers le péritoine d'une série de cobayes, jusqu'à en exalter la virulence au nécessaire degré. Mais les résultats furent négatifs.

Evidemment, l'organisme du lapin, peu sensible à l'infection éberthienne, ne permet pas aux éléments de l'ultravirus typhique d'évoluer jusqu'à la reconstitution des formes visibles originelles respectives et d'autant moins de devenir virulents au point de produire des infections mortelles.

(1) Culture *in vitro* de l'ultravirus tuberculeux. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 107, 1931, p. 584; et : Sull' ultrafiltrazione dei batteri patogeni. *Annali d'Igiene*, 1932, p. 65.

(2) SANARELLI, Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale. I Mémoire. *Ces Annales*, 1892, p. 721.

N'ayant pas donc obtenu le résultat désiré en essayant d'augmenter la virulence du bacille typhique, nous avons cherché à affaiblir la résistance naturelle des animaux.

Dans ce but, nous avons voulu connaître, d'abord, les résultats qu'on pouvait obtenir par une hémolyse exagérée, produite chez les lapins par des injections sous-cutanées répétées de pyrodine (acétal-phénylhydrazine).

A des lapins porteurs de sacs de collodion remplis de cultures typhiques, nous avons injecté, plusieurs jours de suite, 2, 3 et 4 cent. cubes d'une solution de pyrodine à 2 p. 100 et recherché à plusieurs reprises, au moyen de l'hémomètre de Sahli, les diverses phases de la progressive destruction globulaire.

De cette manière, nous avons gardé longtemps des lapins à des taux de Hb réduits à 30 et à 50 p. 100 et bien souvent nous avons obtenu des taux tout à fait minimales : 18, 20, 25 p. 100, à peine suffisants pour la vie des animaux.

Quelquefois les animaux ont succombé, avec anémie extrême jusqu'à 8 p. 100 d'Hb constatée *post-mortem*.

Mais les hémocultures faites plusieurs fois pendant la période anémisante, ainsi que les cultures faites à l'autopsie, sont toujours restées négatives pour les bacilles éberthiens.

Le seul résultat quelque peu remarquable que nous ayons obtenu au cours de ces essais fut l'apparition plutôt hâtive d'agglutinines spécifiques dans le sérum sanguin des lapins bacillifères anémiés.

Chez les lapins bacillifères témoins, non anémiés, l'apparition d'agglutinines spécifiques dans le sang n'est presque jamais constatée, ou, du moins, assez tardivement, au bout de quarante à cinquante jours et toujours avec des taux très bas (1 : 100).

Par contre, chez les lapins bacillifères anémiés par la pyrodine, les agglutinines apparaissent dans le sang beaucoup plus tôt, après une quinzaine de jours, et à des taux beaucoup plus élevés (1 : 400) qui augmentent rapidement jusqu'à atteindre les taux de 1 : 600-1 : 800.

Ces constatations semblaient donc démontrer que des éléments antigènes avaient filtré à travers les parois des sacs de collodion, déterminant dans l'organisme la production d'anti-

corps spécifiques. Le fait que ces anticorps faisaient leur apparition plus hâtive et en quantité plus abondante chez les lapins anémiés, dont les défenses organiques avaient certainement faibli, amenait à penser que ces éléments antigènes ne pouvaient être de simples produits d'élaboration microbienne filtrés à travers le sac, mais des éléments vitaux doués de propriétés biologiques bien plus élevées.

Cette induction fut étayée par les résultats d'autres expériences que nous avons faites chez des lapins — qui étaient porteurs de sacs bacillifères dans leur péritoine — après avoir cherché à affaiblir la résistance naturelle de ces animaux envers l'ultravirus typhique, au moyen d'injections répétées de petites doses de filtrats colibacillaires.

Dans ces cas aussi, depuis que les animaux avaient faibli sous l'action des colifiltrats et avaient diminué notablement de poids, le sérum sanguin commença à présenter des taux d'agglutination progressivement croissants, jusqu'à 1 : 400.

On n'eut cependant pas l'occasion de faire des autopsies, car, après une certaine période de traitement qui ne donnait pas de résultats assez satisfaisants pour notre but, nous avons cessé de pratiquer l'injection des filtrats.

*
* *

Dans le but de réduire aussi, le plus possible, les défenses naturelles immédiates du péritoine des lapins et pour favoriser dans cette cavité séreuse l'implantation et l'évolution ultérieure des éléments spécifiques filtrés à travers les sacs, nous avons pratiqué, chez quelques-uns des animaux, l'ablation de l'épiploon.

On sait bien que l'épiploon joue un rôle de premier ordre dans la défense du péritoine contre les microbes (1).

Un mois après l'ablation de l'épiploon et, de toute façon, pas avant que les animaux ne se fussent complètement rétablis, on introduisait dans le péritoine des sacs de collodion pleins de culture typhique.

Les lapins supportent très bien l'ablation de l'épiploon

(1) SANARELLI, La défense naturelle du péritoine contre les vibrions. Ces *Annales*, 1919, p. 837.

et de même l'introduction ultérieure des sacs bacillifères.

Au bout d'une quinzaine de jours on constate l'apparition, dans le sang des animaux, d'agglutinines spécifiques à des taux assez élevés (1 : 400 - 1 : 800). Mais, au bout de quatre à cinq mois, quelques-uns de ces lapins — et précisément les lapins marqués dans nos protocoles par les n^{os} 487 et 497 — succombèrent à la gale sarcoptique, dans un état d'amaigrissement accentué et presque de cachexie.

A l'autopsie, on rencontre les sacs bacillifères intacts dans l'abdomen et, autour de la calotte de mastic — qui sert à mieux protéger la fermeture des sacs — on constate, comme d'habitude, un peu de pus dense et blanchâtre.

On doit remarquer que, lorsqu'il s'agit de sacs contenant des microbes qui ne semblent pas fournir d'éléments filtrables (charbon, staphylocoques), ou même de sacs contenant des bacilles tuberculeux, le pus cité — probablement dû à la térébenthine qui entre dans la composition du mastic — reste toujours stérile à l'examen microscopique et dans les milieux ordinaires de culture.

Par contre, chez les lapins bacillifères qui étaient morts de gale, lesensemencements du pus donnèrent d'abondantes cultures pures de bacilles éberthiens, qui furent tout de suite sérologiquement identifiés.

L'agglutination du sérum sanguin, obtenu *post mortem*, du lapin 497 fut positive pour le bacille typhique au taux de 1 : 200. Pendant la vie, un mois après l'introduction des sacs dans le péritoine et environ deux mois avant la mort, le taux d'agglutination du sérum avait été de 1 : 800.

La gale sarcoptique du lapin, maladie probablement anergisante, faciliterait donc, dans le pus causé par des agents chimiques (térébenthine), la fixation des éléments filtrables aussitôt sortis des sacs et leur évolution ultérieure *in situ* jusqu'à la reconstitution des formes bacillaires originelles.

Dans ces cas s'était à peu près vérifié ce que nous avons déjà observé dans nos recherches précédentes sur l'ultravirus tuberculeux (1).

(1) Etudes sur l'ultravirus tuberculeux. I. Mémoire. Ces *Annales*, 1932, p. 144.

On sait que cet ultravirus est toujours doué de faible pouvoir pathogène et tend à produire des infections légères, quoique tenaces et de longue durée, mais facilement surmontables par les animaux bien portants.

Cependant, nous avons observé que lorsque chez ces animaux survient une cause quelconque capable d'affaiblir la résistance organique (infection à staphylocoques, avortement, mise bas, pasteurellose, gale sarcoptique), survient de même, facilement, la mort dans un laps de temps plus ou moins long; à l'autopsie, on trouve plus facilement dans les organes les bacilles acido-résistants.

*
* *

Nous voulons relater deux autres observations qui, encore plus significatives que les précédentes, nous ont indiqué la voie juste pour atteindre notre but.

PREMIÈRE OBSERVATION. — Le 18 février 1932, nous avons pratiqué l'ablation de l'épiploon à un lapin (n° 490) de 2.150 grammes.]

L'animal se rétablit complètement dans peu de jours des suites de l'opération. Mais, à partir du 14 mars suivant, il commença à maigrir visiblement. Le 24 mars, son poids était de 1.800 grammes. Néanmoins, nous avons introduit dans sa cavité péritonéale deux sacs de collodion contenant des cultures en bouillon de bacilles typhiques.

L'animal succombe six jours après.

A l'autopsie, on rencontre les deux sacs intacts et pas d'altérations dans les organes. Mais les ensemençements du sang donnèrent des cultures pures de staphylocoque doré; du péritoine, de la rate, du foie on obtint, au contraire, des cultures mixtes de staphylocoques et de bacilles typhiques; de l'enveloppe des sacs on isola des bacilles typhiques en culture pure. Les bacilles typhiques furent tout de suite identifiés sérologiquement.

Evidemment, l'animal avait succombé à une infection staphylococcique qui, probablement, préexistait déjà lors de l'introduction des sacs dans le péritoine.

On supposa que l'état d'anergie organique dans lequel se trouvait déjà l'animal avait favorisé l'évolution des délicats éléments filtrables sortis des sacs, en facilitant leur implantation dans un organisme non capable de défense et en rendant possible leur transformation finale en bacilles typhiques normaux.

DEUXIÈME OBSERVATION. — Le 11 mars 1932, on introduit dans le péritoine d'un lapin (n° 495) de 2.350 grammes deux sacs de collodion remplis de sang

défibriné de lapin, ensemencé de bacilles typhiques. L'animal se rétablit rapidement des suites de l'opération. Le 24 avril, il avait atteint le poids de 2.800 grammes. Mais à partir du mois de mai il commença à maigrir. Le 31 mai, il pesait 1.600 grammes. Il mourut de gale le 3 juin, pesant 1.403 grammes.

A l'autopsie, on rencontre les sacs intacts et les organes d'un aspect normal. Seulement, la rate se montrait quelque peu grossie. Les cultures révélèrent le staphylocoque doré en petite quantité, dans le foie, la rate, les poumons. De la pulpe splénique, ainsi que des enveloppes conjonctives des sacs, on isola aussi des bacilles typhiques aussitôt sérologiquement identifiés. Dans ces enveloppes, on rencontre les bacilles typhiques en culture pure.

Même dans ce cas, donc, on suppose que la reconstruction des bacilles typhiques dérivés des éléments filtrables sortis des sacs et, surtout, leur diffusion et leur implantation même dans la rate, avaient été notablement favorisés par l'infection staphylococcique qui était survenue.

Par conséquent, il nous sembla logique d'essayer de reproduire des conditions expérimentales analogues. Il s'agissait de vérifier si les résultats tout à fait positifs que nous avons obtenus — surtout chez les derniers lapins (n^{os} 490 et 495) — relevaient de simples coïncidences ou, au contraire, de phases biologiques que l'on pourrait reproduire *ad libitum*.

*
* *

Les résultats obtenus par des expériences faites suivant ces directives nouvelles ont entièrement confirmé nos prévisions.

Notre souche de staphylocoque doré, isolée du sang du lapin n^o 490, s'était montrée fort virulente et peu facile à être contrôlée au point de vue des doses, c'est-à-dire pour obtenir toujours les mêmes effets chez les animaux.

En conséquence, les résultats ne furent pas toujours uniformes.

Toutefois, il suffira de lire les protocoles suivants comportant des résultats positifs et choisis comme exemples, pour comprendre clairement l'influence exercée par les staphylococcies sur l'évolution de l'ultravirus typhique introduit ou hébergé dans un organisme animal.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Dans la cuisse gauche d'un lapin de 1.350 grammes (n^o 509), on injecte, le 22 avril 1932, 1 cent. cube de bouillon-culture staphy-

lococcique. Le 26 du même mois, le poids se montrait déjà réduit à 1.200 grammes.

On introduit, ce même jour, dans le péritoine deux sacs de collodion contenant un bouillon-culture typhique. L'animal succombe trois jours après. A l'autopsie, on trouve les sacs intacts. Pas de lésions apparentes dans les organes. Petit abcès au niveau de l'inoculation. Lesensemencements du sang et de la sérosité péritonéale révèlent des cultures pures de staphylocoques; de la pulpe splénique et de l'enveloppe conjonctive des sacs, on cultive des colonies mixtes de staphylocoques et de bacilles typhiques; de la bile, on isole le bacille typhique en culture pure. Les colonies furent tout de suite identifiées sérologiquement.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Sous la peau d'un lapin (n° 516) de 1.700 grammes, on injecte (cuisse gauche), le 6 mai 1932, 1/2 cent. cube de bouillon-culture staphylococcique.

Le 12 du même mois, le poids de l'animal se montrait réduit à 1.450 grammes. Ce même jour, on introduit dans le péritoine deux sacs de collodion contenant de la culture typhique.

L'animal succombe huit jours après.

A l'autopsie, on retrouve les sacs intacts. Pas de lésions apparentes dans les organes, à l'exception de l'habituel abcès caséeux au niveau de l'inoculation.

Lesensemencements du sang donnèrent des cultures pures de staphylocoques; ceux du péritoine, du foie et de la rate donnèrent des cultures mixtes de staphylocoques et de bacilles typhiques. La bile contenait ces derniers en culture pure.

TROISIÈME et QUATRIÈME EXPÉRIENCES. — Sous la peau d'un lapin (n° 510) de 1.250 grammes, on injecte, le 22 avril 1932, 1 cent. cube de culture staphylococcique. Le 26 suivant, le poids du corps étant de 1.150 grammes, on introduit dans le péritoine deux sacs de collodion contenant une culture typhique.

L'animal succombe quarante-huit heures après.

A l'autopsie, on retrouve les sacs intacts et libres.

Les organes, apparemment, sont normaux. Abcès au niveau de l'articulation coxo-fémorale gauche. Lesensemencements montrent des staphylocoques dans le sang et dans les organes. Aucun bacille typhique.

On lave les deux sacs dans une solution très diluée de formol et puis on les introduit, le 5 mai, dans le péritoine d'un autre lapin (n° 512) de 1.300 grammes, qui, depuis le 29 avril, c'est-à-dire peu de jours auparavant (il pesait alors 1.400 grammes), avait reçu sous la peau de 1/10 de centimètre cube de bouillon-culture de staphylocoques.

L'animal continue à maigrir progressivement; ensuite, il reprend jusqu'à peser, le 6 juin, 1.350 grammes. Ce dernier jour, on lui fait une injection intraveineuse de 1 cent. cube de bouillon culture staphylococcique. Il meurt au bout de neuf jours, pesant 950 grammes. A l'autopsie, on retrouve les sacs intacts et les organes en apparence normaux. Sous l'enveloppe des sacs, on trouve une grande quantité de pus très dense, blanc grisâtre.

Lesensemencements révèlent des staphylocoques dans le sang et dans tous les organes. Dans le pus mentionné, on trouve des bacilles typhiques en culture pure, et sérologiquement bientôt identifiés.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE. — Les deux sacs rencontrés intacts dans le péritoine du lapin n° 509 de la première expérience, lavés dans une solution très diluée

de formol, sont introduits, le 5 mai 1932, dans le péritoine d'un lapin neuf (n° 513) de 1.300 grammes, qui avait déjà reçu le 23 avril — il pesait alors 1.350 grammes — l'injection sous-cutanée de 1/10 de centimètre cube de bouillon-culture staphylococcique.

L'animal continue à diminuer de poids jusqu'à la mort (950 grammes), qui survint le 16 mai.

A l'autopsie, on rencontre une quantité remarquable de pus dans la paroi abdominale au niveau de la blessure opératoire. Quantité d'adhérences entre le péritoine et les anses intestinales. Les sacs intacts adhéraient fortement à ces anses et étaient enveloppés d'une robuste enveloppe conjonctive. Entre les enveloppes et les sacs, quantité notable de pus. Urine albumineuse, mais alcaline.

Lesensemencements donnèrent des staphylocoques dans l'exsudat péritonéal, dans le pus de la paroi abdominale, dans la rate et dans le pus situé entre l'enveloppe et les parois des sacs. Mais on isole le bacille typhique, sérologiquement identifié, de ce pus et de celui rencontré dans la paroi de l'abdomen.

L'interprétation des résultats de ces expériences est bien facile et de même sont bien clairs les enseignements qui en découlent.

Il est donc démontré que les infections staphylococciques, préexistantes ou survenues dans l'organisme des lapins — bien peu sensibles au virus typhique et, par conséquent, encore plus résistantes envers son ultravirus — déterminent chez ces animaux un état particulier de réceptivité.

On peut supposer que les produits de sécrétion du staphylocoque exercent, soit une stimulation vitale, c'est-à-dire une sorte de synergie directe sur les fragiles éléments de l'ultravirus typhique filtré à travers les parois des sacs, favorisant ainsi son développement végétatif, soit une action affaiblissante et paralysante sur les défenses naturelles de l'organisme, réalisant ainsi une synergie indirecte.

Dans ce cas, l'organisme s'anergise, c'est-à-dire qu'il devient incapable de se défendre et de réagir. En conséquence, les délicats éléments ultrafiltrés auraient la possibilité d'évoluer ainsi *in vivo* — de même qu'il est démontré qu'ils peuvent évoluer *in vitro* — jusqu'à accomplir entièrement leur cycle vital. De cette manière, ils reconstitueraient leurs propres formes bacillaires originelles, spécifiquement identifiables et faciles à cultiver.

D'ailleurs, le pouvoir synergique et anergisant du staphylocoque doré constitue une notion très ancienne en microbiologie.

Dès 1889, Roger (1) a démontré que le staphylocoque ôte au lapin l'immunité naturelle envers le charbon symptomatique. En 1895, Besson trouva (2) que le staphylocoque permet, dans l'organisme du lapin, la germination des spores du vibron septique, en les protégeant contre l'action des phagocytes. En 1899, Guillemot (3), en étudiant les associations microbiennes de la gangrène du poumon, a constaté que le *B. ramosus*, peu virulent, lorsqu'il se trouve associé au staphylocoque, — même dans les cas où ce dernier n'est pas pathogène —, provoque, chez les animaux, des phénomènes infectieux graves et parfois mortels. En 1900, Leclainche et Vallée (4) constatèrent que le staphylocoque fait germer chez le cobaye les spores du *B. Chauveaui*; Aronson observe, en 1920 (5), que le staphylocoque exalte le pouvoir pathogène du *B. perfringens*, etc.

On sait que les bacilles diphtériques inoculés sous la peau tuent les animaux sans, cependant, se répandre dans le sang et les organes. Or, en associant le staphylocoque aux bacilles diphtériques, Métin a constaté (6) que ces derniers peuvent se cultiver du sang et des différents organes. Mya (7) a exalté chez les cobayes le bacille diphtérique en l'associant au staphylocoque. De même, Hobbs et Lafolie (8), par l'association du staphylocoque au *B. subtilis* — simple saprophyte — ont réussi à rendre pathogène ce dernier microbe!

D'ailleurs, nous savons aussi, depuis longtemps, comment, par l'action de produits microbiens, on peut rendre le bacille typhique plus virulent et plus pathogène pour les animaux peu réceptifs.

(1) Inoculation du charbon symptomatique au lapin. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1889, p. 35, 77 et 242.

(2) Contribution à l'étude du vibron septique. *Ces Annales*, 1895, p. 179.

(3) Recherches sur la gangrène pulmonaire. *Thèse de Paris*, 1899.

(4) Recherches expérimentales sur le charbon symptomatique. *Ces Annales*, 1900, p. 202.

(5) Rôle des propriétés biochimiques des staphylocoques dans leurs associations avec le *B. perfringens*. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1920, p. 1082.

(6) Le bacille de la diphtérie pullule-t-il dans les organes? *Ces Annales*, 1898, p. 602.

(7) Sul valore delle associazioni batteriche nella difterite. *XI^e Congr. int. di Medicina*, Rome, 1894, 2, p. 16.

(8) Rôle pathogène du *B. subtilis* associé à d'autres microbes. *III^e Congr. internat. des Sc. médicales*, Paris, 1900.

L'un de nous (1), dès 1892, a démontré que l'exaltation du bacille typhique dans l'organisme du cobaye est beaucoup favorisée par les produits de sécrétion du *B. coli*. De même, Blachstein et Zumf (2) et Agró (3) ont constaté que la virulence du bacille typhique augmente lorsqu'on associe ce germe, *in vivo*, au *B. coli* ou à d'autres microbes. Levy et Thomas (4) et Vincent (5) ont constaté que l'association du bacille typhique au *Proteus vulgaris* est remarquablement nuisible pour les animaux d'expérience. Vincent a, en outre, constaté dans ses classiques recherches sur le *B. fusiformis* que ce microbe n'exerce aucune action sur les animaux sains, mais qu'il devient pathogène quand son activité est excitée par le staphylocoque pyogène (6).

Dans une affection, que l'on est enclin à considérer comme relevant d'un virus filtrable, la grippe, les associations microbiennes exercent aussi une action indiscutablement de premier ordre. En effet, on admet aujourd'hui que, dans la grippe, le virus filtrable favorise les infections secondaires et que celles-ci, par des phénomènes synergiques réciproques, augmentent leur action pathogène respective. Il s'agirait, dans ce cas, d'un phénomène très analogue à celui observé, il y a trente ans, par Rolly (7), qui a démontré que les bactéries de la putréfaction sont capables, lorsqu'elles se trouvent associées, de transformer la réaction acide du suc de viande et des solutions de peptone en réaction alcaline. Cependant, ces mêmes bactéries ne peuvent modifier la réaction si on les fait agir isolément.

Somme toute, dans la littérature microbiologique, on trouve depuis longtemps relatés plusieurs faits expérimentaux qui peuvent éclaircir les phénomènes compliqués et obscurs du

(1) SANARELLI, Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale. I Mémoire. Ces *Annates*, 1892, p. 721.

(2) Contribution à l'étiologie du choléra. *Arch. de la Soc. de Biologie de Saint-Petersbourg*, 2, 1893, p. 94.

(3) Dell' azione patogena delle culture a simbiosi di *B. coli* e Bacillo colerigeno. *Annali dell' Ist. d'Igiene di Roma*, fasc. 1, 1895, p. 105.

(4) Experimenteller Beitrag zur Frage der Mischinfektion bei Cholera asiatica. *Arch. f. exper. Pharm. und Path.*, 1895, p. 109.

(5) Rôle pathogène du *Proteus* dans les infections alimentaires. Association microbienne protéo-typhique. *Bull. de l'Acad. de Médecine*, 1909, p. 333.

(6) Sur la culture et l'inoculation du bacille fusiforme. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1901, p. 339.

(7) Zur Analyse der Borax-und Borsaeurewirkung bei Faulnisvorgaengen, nebst Studien über Alkali-und Saeureproduktion des Faulnisbakterien. *Archiv für Hygiene*, 1902, p. 348.

mécanisme d'action des associations microbiennes. Ils nous montrent, en effet, pourquoi l'intervention d'un microbe capable d'exercer une action stimulante vitale et des synergies directes ou indirectes peut rendre possible l'évolution complète, biologique et morphologique de l'ultravirus typhique chez un organisme qui naturellement serait inapte à permettre le développement de ce cycle.

Il s'agit d'un phénomène qui présente quelques analogies avec une observation récemment faite par Nègre et Valtis (1), qui ont, en effet, démontré que les injections sous-cutanées d'extraits acétoniques de bacilles de Koch, chez des cobayes auparavant inoculés avec des filtrats tuberculeux, favorisent le développement de lésions spécifiques et la reconstitution des bacilles acido-résistants.

Nous avons observé que la reconstitution des formes bacillaires issues des éléments filtrables avait lieu chez nos lapins d'une façon plus fréquente, immédiatement au contact de la paroi extérieure du sac de collodion, à savoir dans l'espace compris entre cette paroi et l'enveloppe conjonctive qui, dans la cavité péritonéale, s'organise assez hâtivement. Dans cet espace, il se forme rapidement du pus par l'action pyogène des bacilles typhiques néoformés. Ceux-ci, comme d'autres microbes, aussitôt après qu'ils sont issus de leurs éléments filtrables (bacille tuberculeux, bacille paratyphique) [2], montrent au début une activité pathogène très atténuée; ils agissent, par conséquent, comme de simples agents phlogogènes et pyogènes.

Seulement, plus tard, ils se montrent doués d'un pouvoir spécifique plus marqué et capables de se répandre dans l'organisme et de se localiser dans les différents organes. La constatation de leur présence dans la vésicule biliaire démontre, en effet, qu'ils ont aussi envahi, à un moment donné, le courant sanguin, même dans les cas où lesensemencements avec le sang du cœur étaient négatifs.

(1) Action des extraits acétoniques de bacilles de Koch sur les propriétés pathogènes des éléments filtrables du virus tuberculeux. Ces *Annales*, 1931, p. 587.

(2) SANARELLI et ALESSANDRINI. Etudes sur l'ultravirus tuberculeux. Ces *Annales*, 1932, p. 149; et : Sull' ultrafiltrazione dei batteri patogeni. *Annali d'Igiene*, 1932, p. 15.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

De l'ensemble de ces recherches qui visaient à mettre en lumière la possibilité de la reconstitution des bacilles typhiques au sein de l'organisme vivant, en partant de leurs éléments invisibles ultrafiltrés à travers les sacs de collodion, nous pouvons conclure :

1° Des parois des sacs de collodion contenant des cultures typhiques et placés dans le péritoine de lapins neufs, sortent, de toute évidence, des éléments ultrafiltrables. Cela est démontré par le fait que, après quelque temps, on peut constater, quoique rarement, l'apparition, dans le sérum sanguin des animaux porteurs de sacs bacillifères, un faible taux d'agglutination spécifique.

2° Quand on provoque, chez les lapins porteurs des sacs bacillifères, une anémie grave au moyen d'injections périodiques de pyrodine, l'apparition des agglutinines spécifiques dans le sérum sanguin a lieu plus régulièrement et plus précocement et l'on observe des taux plus élevés.

3° Même l'ablation préalable de l'épiploon — organe lymphatique si important pour la défense antimicrobienne péritonéale — favorise, chez les lapins porteurs de sacs bacillifères, une production plus hâtive et plus copieuse d'agglutinines sériques.

Mais, ni l'anémie intense, ni l'ablation de l'épiploon, et pas même les injections répétées de filtrats colibacillaires, ne semblent favoriser — comme on peut le vérifier au moyen des cultures ordinaires — la reconstitution des formes bacillaires se développant à partir des éléments de l'ultravirus typhique sortis des parois des sacs.

4° Au contraire, quelques affections graves, pré-existantes ou survenues chez les lapins porteurs de sacs bacillifères (gale sarcoptique et, surtout, les staphylococcies), soit par la stimulation qu'elles exercent sur les éléments de l'ultravirus typhique, soit en anergisant le lapin, rendent celui-ci incapable de se défendre et d'empêcher l'évolution de ces éléments filtrés à travers les parois des sacs.

5° Dans ces conditions favorables, l'ultravirus réussit à s'im-

planter dans l'organisme, évolue et accomplit son cycle biologique jusqu'à acquérir sa morphologie normale nettement bacillaire, qui cultive avec la même facilité que sa souche originelle. D'abord, il se multiplie et pullule seul, au contact immédiat des sacs où, soit par l'action chimique de la térébenthine, — qui entre dans la composition du mastic qui protège la fermeture des sacs — soit par sa propre action pyogénique, a lieu la formation d'une certaine quantité de pus caséux. Ensuite, les bacilles deviennent capables de se répandre dans les organes, en passant même à travers la circulation sanguine, comme on peut facilement le constater par des recherches bactériologiques lors de l'autopsie des animaux.

6° La constatation que des processus morbides anergisants ou synergisants, tels que la gale et les staphylococcies, favorisent l'implantation et l'évolution de l'ultravirus typhique dans l'organisme peu sensible du lapin, rappelle un fait analogue, mis en évidence par nous, à l'égard du bacille tuberculeux : les cobayes s'infectent et meurent plus facilement par l'action de l'ultravirus tuberculeux, non seulement quand la mise bas ou l'avortement se produit, mais aussi lorsque survient une maladie anergisante ou capable de déterminer des synergies, unilatérales ou réciproques, directes ou indirectes, de nature parasitaire ou microbienne.

TYPHO-BACILLOSE EXPÉRIMENTALE DU SINGE ET DE L'HOMME

par JEAN TROISIER et T. DE SANCTIS MONALDI.

Depuis le jour où Landouzy décrivait la *typho-bacilliose* humaine en partant d'une triple donnée clinique, une phase fébrile avec un tracé thermique simulant celui d'une dothiérientérie, une phase de rémission apyrétique et une phase plus ou moins tardive de localisation tuberculeuse, nombreux furent les travaux cliniques qui confirmèrent ceux du grand médecin français. L'absence dûment confirmée de taches rosées lenticulaires, et plus tard l'absence régulière du séro-diagnostic typho-paratyphique de Widal, authentifiaient triomphalement sur le terrain clinique la description de Landouzy.

Sur le terrain pathogénique, par contre, l'interprétation première de Landouzy se heurtait à des oppositions passionnées. Landouzy comparait le tableau anatomique qu'il attribuait à la typho-bacilliose — lésions congestives diffuses avec quelques granulations isolées — avec celui de la bacilliose type Yersin, provoqué par l'inoculation intraveineuse au lapin du bacille de la tuberculose aviaire. Il acceptait ultérieurement l'assimilation de la courbe thermique des bovidés de Calmette et Guérin, inoculés avec du bacille bovin, malgré la brièveté de la période fébrile, qui ne ressemblait guère à la longue fièvre continue de l'homme (1).

(1) CALMETTE et GUÉRIN : Vaccination des bovidés contre la tuberculose et méthode nouvelle de prophylaxie de la tuberculose bovine. Ces *Annales*, 38, mai 1924, p. 374-398.

Dans cet article, les auteurs signalent après injection sous-cutanée de BCG (50 à 100 milligrammes) « du quinzième au dix-huitième jour une poussée fébrile assez forte (38°6 à 40°5), s'accompagnant de tristesse et d'anorexie. La fièvre dure cinq ou six jours, puis disparaît, et l'état général redevient excellent. Cette hyperthermie tardive rappelle exactement ce que nous constatons lors de nos essais de vaccination par voie intraveineuse. Elle résulte sans doute d'une septicémie bacillaire ».

Cette hyperthermie consécutive à l'injection sous-cutanée de BCG est

Gougerot (1), avec des bacilles humains homogénéisés, inocule des lapins dans la veine à des doses variables. Il obtient soit la mort en vingt à vingt-huit jours avec des lésions congestives diffuses, et une vingtaine de granulations (« type Yersin »), soit la mort en quatre à cinq mois, après une phase fébrile, une régression et une dernière poussée évolutive; l'autopsie montre des lésions caséuses des poumons et des granulations généralisées. Un lapin, enfin, qui guérissait après une phase fébrile, et sacrifié au dixième mois, ne présentait aucune lésion.

Gougerot assimilait l'évolution de la maladie de ses lapins à celle de la typho-bacilliose humaine, avec sa triple évolution clinique possible.

Contre ces conceptions pathogéniques, basées surtout sur la notion de septicémie et la comparaison avec les lésions congestives provoquées par le bacille aviaire sur les lapins, une violente attaque fut surtout dirigée par les pédiatres.

A leur tête, Hutinel montrait que tout enfant atteint de typho-bacilliose présentait des signes d'adénopathie trachéo-bronchique, ou de lésions pulmonaires concomitantes, notions qui devaient être confirmées ultérieurement par la radiographie. Que devenait dès lors la conception purement septicémique de la typho-bacilliose? Mais devait-on opposer la notion de septicémie et la notion de lésion locale? Depuis les recherches de Löwenstein ne sait-on pas la fréquence alliée de la bacillémie et des lésions des organes chez l'homme?

Il nous a paru dès lors qu'il y avait lieu de reprendre l'étude de la *typho-bacilliose* sur le terrain expérimental pour essayer de donner une réponse à ces questions. D'autant plus qu'il nous avait semblé à la lecture de plusieurs travaux que le fait

décrite également dans la 3^e édition du livre de A. Calmette, *L'Infection bacillaire et la Tuberculose chez l'homme et chez les animaux*, 1928. On trouvera à la page 787 une courbe caractéristique.

Voyez également : CALMETTE et GUÉRIN : Recherches expérimentales sur la défense de l'organisme contre l'infection tuberculeuse. Sérothérapie. Immunité. Ces *Annales*, 25, septembre 1911, p. 625. Expérience p. 638.

(1) H. GOUGEROT : Reproduction expérimentale de la typho-bacilliose de Landouzy. *Revue de Médecine*, n° 7, juillet 1908, p. 653.

même de la reproduction expérimentale de la typho-bacillose était encore des plus douteux. Tantôt les courbes thermiques des animaux n'étaient pas publiées, tantôt la poussée thermique était éphémère et ne rappelait que de loin les courbes humaines. Enfin, le choix des bovidés, et surtout du lapin, ne permettait que difficilement de superposer les maladies obtenues chez ces animaux à la maladie spontanée de l'homme.

C'est dans ces conditions que nous entreprîmes des expériences sur le singe et même sur l'homme pour essayer d'obtenir la fidèle reproduction de la phase « typhoïde » de la maladie, de la « typho-bacillose » proprement dite.

*
* *

Il était nécessaire, tout d'abord, d'expérimenter sur des singes réellement neufs. Etudier la fièvre d'invasion tuberculeuse sur des singes déjà tuberculisés eût été un non-sens. Les babouins que nous avons utilisés pour ces épreuves provenaient directement de la brousse équatoriale. Ils avaient été capturés quelques jours auparavant aux environs de Pastoria (Kindia), dans l'Afrique Équatoriale française. Ils avaient été confiés sur le paquebot qui les avait amenés de Konakry à Bordeaux aux soins d'un robuste nègre indemne de bacillose. Pour plus de sûreté, à défaut de réactions tuberculiniques toujours en défaut chez ces animaux, nous recherchâmes la teneur de leur sérum sanguin en anticorps tuberculeux ; elle était rigoureusement négative, quelle que fût la technique employée (antigène méthylrique, antigène aqueux BCG, Besredka). Enfin signalons que la réaction de Vernes à la résorcine oscillait chez ces animaux de 8 à 10 degrés photométriques.

De plus, confrontant les données de la clinique humaine, qui n'offre jamais le tableau simultané de la typho-bacillose et de la nécrose caséuse diffuse, nous avons pensé que notre étude expérimentale gagnerait en netteté en employant un germe dépourvu de toute aptitude caséogène. L'emploi du bacille de Calmette-Guérin (BCG) répondait à ce desideratum.

Restait à envisager la question de doses et de voie d'inoculation.

Quelques expériences préalables nous montrèrent que des doses modérées de BCG, même par voie endoveineuse, ne provoquaient sur les singes aucune réaction thermique.

A la dose de 1/2 centigramme (0 gr. 005) administré par voie veineuse à un chimpanzé, le BCG ne provoquait sur sa courbe thermique pendant cinquante-sept jours d'autre altération qu'une élévation isolée à 38° le vingthuitième jour. La température rectale restait fixée entre 37°2 et 37°4.

D'autre part, une dose trop élevée provoquait la mort du singe avant le développement de la typho-bacilliose.

Ainsi, une inoculation intraveineuse de 3 centigrammes de BCG (0 gr. 03) provoquait la mort au onzième jour d'un jeune babouin (n° 9). Depuis le septième jour, la fièvre s'était installée, oscillant entre 39°3 et 39°7.

Par contre, un premier essai à la dose de 1 centigramme 1/2 (0 gr. 015) injecté dans la veine d'un jeune babouin (n° 2) nous ayant donné un résultat pleinement satisfaisant, nous nous décidâmes à employer la dose de 2 centigrammes sur un lot de quatre babouins, paraissant un peu plus âgés.

Nous avons choisi les 4 babouins en question parmi les plus disciplinés de la singerie. Ils se laissaient régulièrement prendre la température rectale sans aucune manifestation intempestive, qui aurait pu troubler leur tracé thermique. De fait, leur température centrale oscillait entre 38° et 38°3, exceptionnellement 38°4, chiffre parfaitement physiologique dans cette espèce animale (*Papio babouin*). Leur poids oscillait autour de 2 kilogr. 500.

Le BCG, confié par M. Guérin, avait été réparti en ampoules dans les mêmes conditions de dilution que le BCG fourni pour la prémunition des nouveau-nés par voie buccale. Il était employé le lendemain de sa mise en ampoules.

L'injection, strictement intraveineuse, était poussée lentement et n'était suivie d'aucun effet nocif immédiat.

*
* *

La maladie expérimentale de nos babouins était tout d'abord caractérisée par une courte période d'incubation apyrétique.

Ainsi le babouin 99 présentait, avant l'inoculation, l'hémogramme suivant :

Polynucléaires neutrophiles	74
Polynucléaires éosinophiles	2
Polynucléaires basophiles	1
Mononucléaires	18
Lymphocytes	6

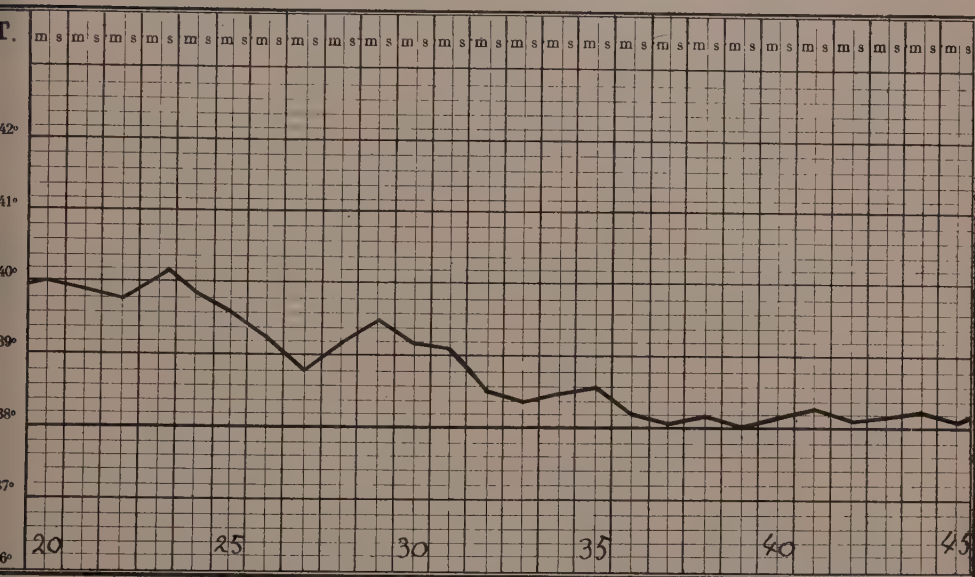


Fig. 2.

Après injection intraveineuse de BCG (0 gr. 02). Babouin neuf.

Vingt et un jours après l'inoculation, on trouvait :

Polynucléaires neutrophiles	51
Polynucléaires éosinophiles	2
Polynucléaires basophiles	1
Mononucléaires	44
Lymphocytes	2

L'hémoculture pratiquée sur 2 singes, respectivement le seizième et le dix-septième jour, en pleine période fébrile (40° et 39°9), est restée stérile malgré l'emploi de la technique de Löwenstein et du milieu de Petragnani.

En même temps, on voyait apparaître dans le sérum sanguin des *anticorps* tuberculeux, mais d'une manière très inégale.

Le babouin 97 possédait 40 unités C. M. le dix-neuvième jour (antigènes méthylé et BCG). Le babouin 98, 10 unités le quatorzième jour et 40 unités le trente-cinquième jour. Le babouin 99 présentait 20 unités (antigène BCG) le quatorzième jour. Par contre, le babouin 96 restait toute la maladie sans anticorps; ceux-ci apparaîtront seulement au commencement du troisième mois (10 puis 20 unités).

Après deux ou trois septénaires de fièvre continue, la *déferescence* se produit; la température s'abaisse progressivement en lysis pour retomber à la normale, le trente-septième jour chez le babouin 98 (forme prolongée), le seizième jour chez le babouin 96 (forme écourtée de la maladie), une fois seulement nous avons observé une ondulation de la courbe thermique avec régression temporaire de la fièvre avant la descente définitive en lysis.

Dès lors, le singe entre en *convalescence*, il reprend du poids, s'alimente davantage. Cette typho-bacillose à BCG, cette « bécégite » fébrile, guérit intégralement, sans séquelles cliniques.

*
* *

Qu'allait-il advenir de nos 4 singes après cette typho-bacillose caractérisée? Allaient-ils, comme trop souvent dans l'espèce humaine, après une phase de rémission, entrer dans la tuberculose caséifiante des viscères, des poumons en particulier? Leur typho-bacillose serait-elle maligne ou serait-elle bénigne, dans ses conséquences lointaines?

Au cours des mois qui suivirent, la santé générale des singes ne parut pas altérée. Leur température, prise régulièrement pendant trois semaines le cinquième mois qui suivit la maladie, restait rigoureusement physiologique (38° à 38°4). Leur réaction de Vernes-résorcine oscillait respectivement entre 9-20, 9-19, 6-23, 9-15. Les anticorps tuberculeux se maintenaient presque intégralement (20-40, 30-40, 20, 10-20).

A la fin du cinquième mois pour deux singes, à la fin du sixième pour les deux autres, nous les éprouvâmes par voie veineuse avec une dose de BCG quatre fois moins forte, à savoir avec 1/2 centigramme de BCG (0 gr. 005). Les quatre singes firent une réaction thermique d'un type différent de la première. Dès le premier jour, deux singes eurent la fièvre (39°5, 39°5);

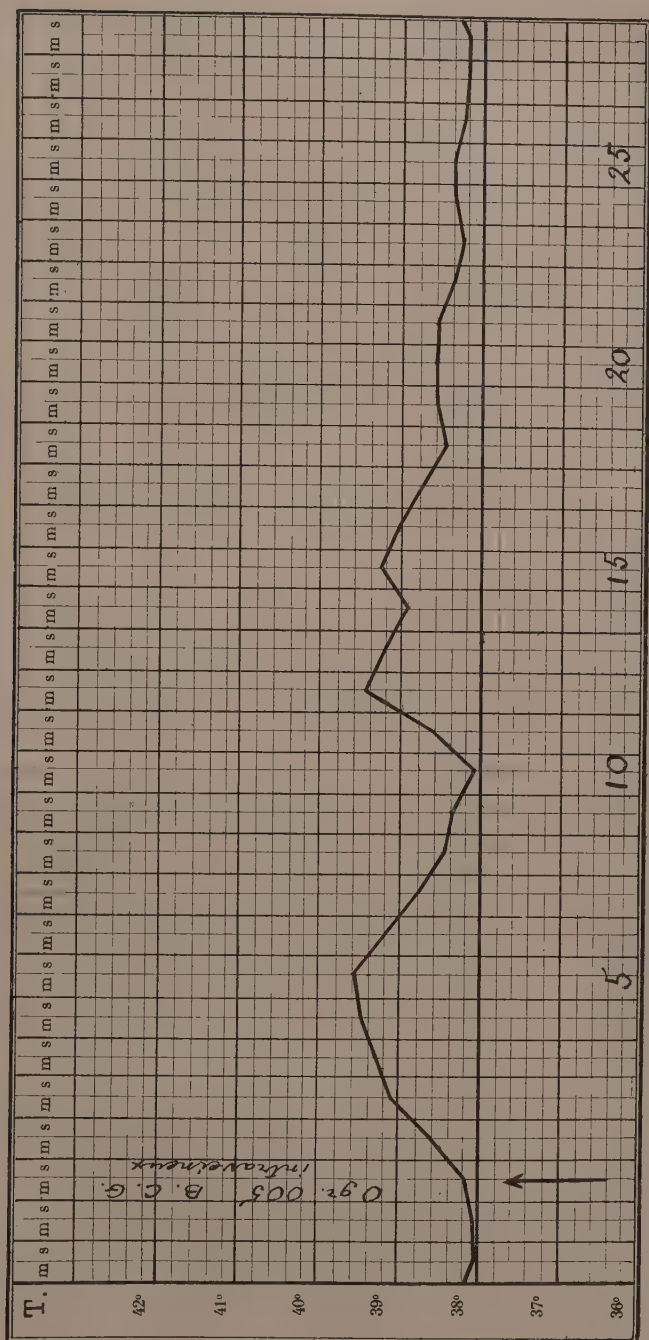


Fig. 3. — Deuxième injection intraveineuse de BCG (0 gr. 005) sur un babouin,

dès le deuxième, tous étaient franchement fébriles ($39^{\circ}1$, $38^{\circ}9$, $39^{\circ}6$, $39^{\circ}7$) : *suppression* quasi totale de la période d'incubation. Deuxième caractère : plus de fièvre continue pendant deux à trois septénaires, mais régression thermique avec apyrexie du cinquième au sixième jour (3 cas) ou du septième au onzième (1 cas), suivie d'une reprise thermique, d'une sorte de rechute du septième au neuvième jour (2 cas), du septième au douzième (1 cas), du douzième au dix-septième (1 cas). Cette fièvre à rechute sans incubation caractérise, à cette époque, la réactivité de nos singes vis-à-vis d'une inoculation seconde de BCG.

Que devenaient les anticorps à la suite de cette réinoculation de BCG? Un singe, qui n'en présentait plus, possédait 40 unités (antigènes méthylique et BCG) seize jours après. Un deuxième qui n'en avait que 15 en présentait 40, un troisième passait de 20 à 40; le dernier restait à 30 (antigène BCG) dans la quinzaine qui suivait. Trois hémocultures restèrent négatives en pleine poussée thermique.

Cette réinoculation intraveineuse de BCG ne devait pas troubler la santé de nos animaux et nous les retrouvâmes un an après la première inoculation dans un état satisfaisant, bien que trois d'entre eux ne possédassent plus d'anticorps dans leur sang.

Nous nous décidâmes à pratiquer une deuxième réinoculation intraveineuse pour juger si nos singes, malgré la défaillance de la réaction de fixation, étaient encore en état de prémunition.

Pour le juger, et pour comparer utilement la courbe thermique des singes avec la première courbe obtenue un an auparavant, nous nous décidions à inoculer dans la veine la même dose colossale de BCG que la première fois. Nous n'ignorions pas les risques de cette manière de procéder, mais nous passâmes outre.

Un an après la première inoculation, nous injectons donc 2 centigrammes (0 gr. 02) de BCG dans la veine de nos quatre babouins. Les jours qui suivirent, les quatre animaux, dont le tracé thermique pris depuis onze jours était rigoureusement physiologique ($38^{\circ}4$ au maximum), firent une fièvre à rechute identique à celle qui avait suivi la première réinoculation, confirmant bien ainsi la notion d'*allergie thermique* qui se dégageait déjà six mois auparavant!

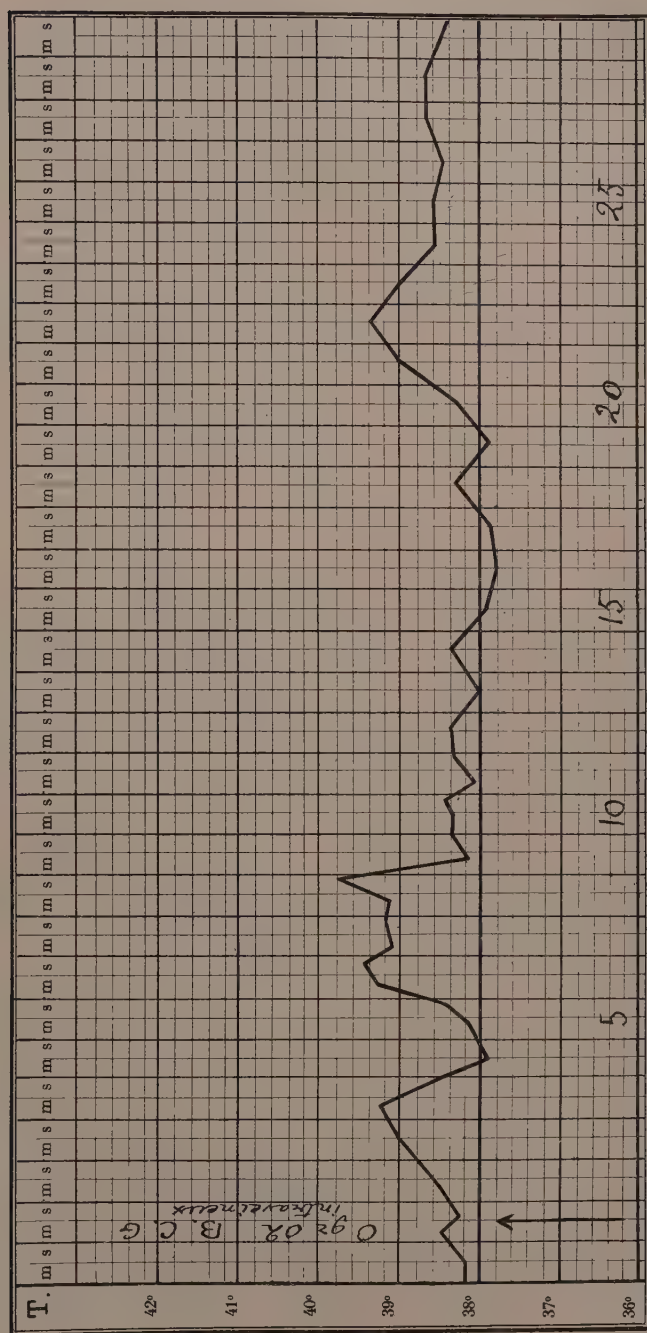


Fig. 4.— Troisième injection intraveineuse de BCG (0 gr. 02), un an après la première injection. (Babouin.)

Dès le deuxième jour, trois animaux avaient de la fièvre ($39^{\circ}3$, 39° , 39°). La phase d'apyrexie s'étalait du troisième au quatrième jour. La rechute thermique se lisait sur la courbe du sixième au neuvième jour (3 cas), du cinquième au septième jour (1 cas).

La preuve était ainsi faite que la « typho-bacilliose » expérimentale du singe ne pouvait être reproduite que sur des animaux neufs.

La preuve était également fournie que le BCG n'avait pas été éliminé entièrement de l'organisme pendant la période où nous les avons observés. La prémunition avait été solide et durable.

Enfin, l'allergie thermique, à défaut des réactions tuberculiniques défailiantes, venait caractériser biologiquement cet état de prémunition.

*
* *

Malgré la brutalité de cette deuxième réinjection, un de nos singes put survivre. Sa température, redevenue normale le neuvième jour, présenta une autre ondulation à 39° , $39^{\circ}4$, 39° , du vingt et unième au vingt-troisième jour, pour redevenir normale. Après avoir fortement maigri, le singe au bout d'un an et demi d'expérience est redevenu vaillant et solide.

Les trois autres babouins ne purent résister au violent choc produit par les 2 centigrammes de BCG. Tous trois, après la réaction thermique allergique dont nous avons parlé, présentèrent de l'hypothermie et moururent dans le collapsus (seizième, vingt-deuxième et vingt-cinquième jours):

Leur autopsie révélait presque exclusivement des lésions pulmonaires récentes : zones rougeâtres, noirâtres, irrégulières, festonnées, semées ou non de fines granulations blanchâtres à la limite de la visibilité. Les ganglions, les reins, les surrénales, le foie ne présentaient pas de lésions notables à l'œil nu.

L'examen histologique ne décelait dans les poumons que des nodules plus ou moins isolés d'alvéolite, constitués par des monocytes, cellules alvéolaires desquamées en voie de prolifération. Des tubercules isolés se retrouvaient aussi dans le parenchyme hépatique, avec les mêmes caractères morphologiques.

On pouvait se demander si ces tubercules, si cette *alvéolite monocyttaire* étaient bien le fait du BCG ou d'un autre bacille tuberculeux. Les inoculations systématiques des viscères des trois singes à une série de cobayes restèrent sans résultat. De plus, sur un des trois singes (babouin 97), nous pûmes isoler directement par culture des viscères un bacille acido-résistant que l'analyse biologique devait révéler être du BCG.

Les colonies isolées sur Petraghani des viscères du babouin 97 se présentent, en effet, sèches, rugueuses, blanchâtres. Elles se développent lentement et sont constituées par des bacilles acido-alcoolo-résistants d'aspect homogène et un peu courts (3 à 4 μ).!

Leur nombre varie notablement suivant l'organe ensemencé. On en trouve respectivement sur chacun des tubes :

Pour le foie	10 et 12 colonies.
Pour le poumon	13 et 80 —
Pour la rate	10 et 50 —
Pour les ganglions bronchiques	0 et 3 —
Pour les ganglions inguinaux	0 et 0 —

Pour déterminer la nature et la virulence de ces germes, on a inoculé 6 cobayes par voie sous-cutanée avec 2 milligrammes de culture (0 gr. 002) et 6 autres cobayes dans le péritoine avec 1 milligramme (0 gr. 001).

Aucune lésion locale consécutive. A l'épreuve de la tuberculine, 4 cobayes seulement sur 12 réagissent au bout d'un mois et très faiblement.

Sacrifiés du trentième au cent vingtième jour après l'inoculation, aucun de ces cobayes n'a présenté de lésions macroscopiques.

On doit conclure que le germe isolé de l'organisme du babouin est bien du BCG.

Ajoutons que nous avons également inoculé directement les viscères des 3 babouins morts à une série de cobayes. Aucun d'entre eux n'a présenté de phénomènes pathologiques. Le quart d'entre eux seulement a réagi faiblement à la tuberculine.

Ces constatations sont également en faveur de la nature « bécégétique » de la maladie des singes.

L'ensemble de la maladie expérimentale que nous avons décrite est donc bien lié exclusivement à l'introduction du BCG dans les veines.

A la dose de 2 centigrammes, le jeune babouin, inoculé de BCG par la voie endoveineuse, réagit s'il est neuf par une fièvre continue de deux à trois septénaires. Il guérit entièrement par la suite et reste prémuni, comme le laisse soupçonner l'« allergie thermique ».

Il nous reste à étudier maintenant la typho-bacillose expérimentale de l'homme.

*
* *

Dans les mêmes conditions expérimentales que le singe, l'homme peut présenter — nous avons déjà signalé le fait avec Boquien (1) — une typho-bacillose bénigne parfaitement curable.

Nous avons pu opérer sur un sujet entièrement indemne de tuberculose; il vivait à Paris dans des conditions d'hygiène qui nécessitaient une prémunition solide et immédiate. Il s'agissait d'un jeune homme de dix-neuf ans, convalescent

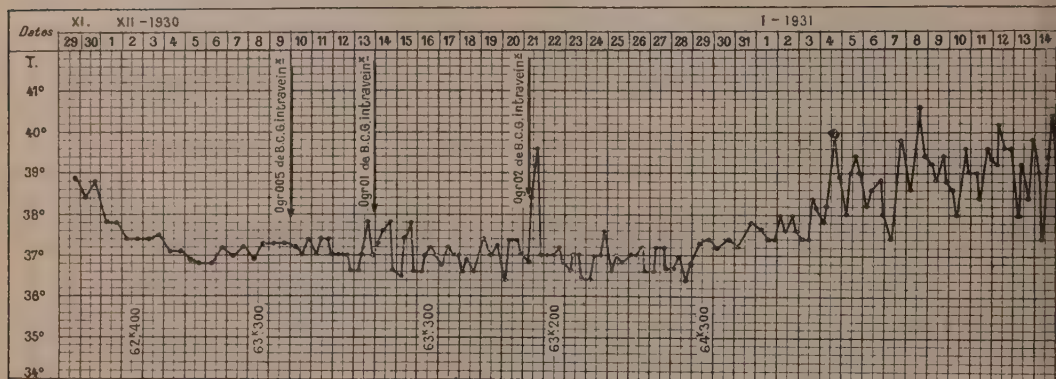


FIG. 5.

FIG. 5 et 6. — Typho-bacillose expérimentale

d'érythème polymorphe; il avait quitté récemment la campagne; ses réactions à la tuberculine étaient négatives, même au dixième en intradermo; la réaction de fixation était négative avec trois antigènes différents (Besredka, BCG, méthyllique); la réaction de Vernes à la résorcine donnait le chiffre de 14; les radiographies pulmonaires ne montraient aucune lésion.

On pouvait donc considérer l'organisme de cet homme

(1) JEAN TROISIER, YVES BOQUIEN et de SANCTIS-MONALDI. Typho-bacillose provoquée chez un adulte par l'injection intraveineuse de doses massives de BCG. Réactions biologiques. Guérison. *Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, séance du 26 juin 1931, n° 23, pages 1215-1221.

Nous renvoyons à ce travail pour les détails cliniques et pour la critique diagnostique.

comme vierge de tuberculose, à l'instar de nos singes de la brousse africaine.

Par prudence, et pour juger une fois de plus s'il s'agissait bien d'un organisme « neuf », nous ne lui injectâmes tout d'abord dans la veine que 5 milligrammes de BCG (0 gr. 005). Aucune réaction thermique.

Trois jours après, nous injectons 1 centigramme (0 gr. 01) et, neuf jours après cette seconde injection, troisième inoculation intraveineuse de 2 centigrammes (0 gr. 02). La deuxième avait à peine troublé le tracé thermique ($37^{\circ}8$); la troisième provoqua un clocher ($39^{\circ}5$) dans les heures qui suivirent.

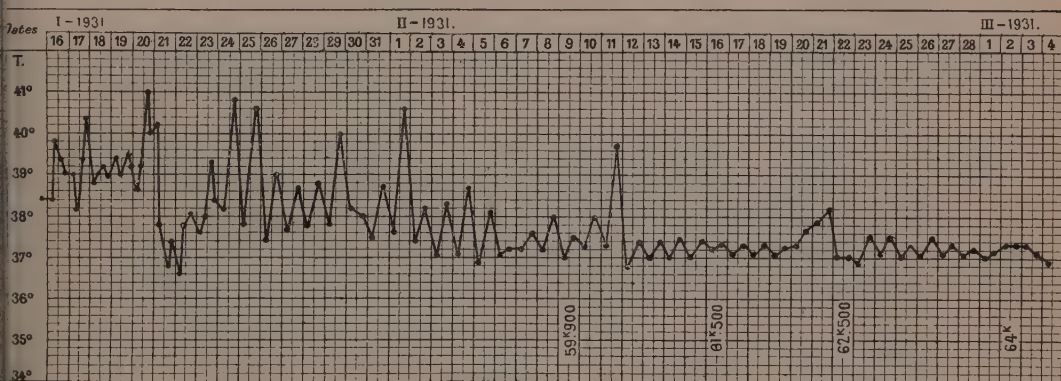


FIG. 6.

humaine, après injections intraveineuses de BCG.

Les onze jours suivants, l'apyrexie restait parfaite ; l'homme gagnait même un kilogramme de poids corporel. La cuti-réaction à la tuberculine, trois fois recherchée dans cette période (neuvième, seizième et vingt et unième jour), restait négative.

Mais le vingt et unième jour le tracé thermique se troublait et le vingt-troisième jour la fièvre s'élevait à 38° . Les jours suivants, comme les tracés ci-contre le prouvent, la fièvre prenait le caractère continu autour de 39° , avec quelques oscillations entre 38° et 40° .

Pendant un peu plus d'un mois, cette typho-bacilliose devait évoluer, avec un minimum de signes cliniques. Aucune adénopathie périphérique, rate légèrement augmentée de volume

comme sur nos singes. Aucune manifestation pulmonaire, pas de dyspnée; aucune altération anatomique décelable sur les clichés radiographiques du poumon. L'examen du sang en pleine maladie révélait une légère polyglobulie sans leucocytose (6.900), avec mononucléose notable.

Polynucléaires neutrophiles	38
Polynucléaires éosinophiles	0
Grands mononucléaires.	8
Moyens mononucléaires	45
Lymphocytes.	9

Nous notions également, à la même période (dixième jour de la fièvre), une hyposérinémie sanguine notable.

Sérine	34 gr. 50
Globuline	28 gr. 50

En même temps que se développe cette typho-bacilliose avec symptômes atténués et fièvre élevée, on voit apparaître des réactions biologiques positives.

La première en date, c'est la réaction de fixation. Elle était même apparue, nettement positive quarante-huit heures avant le début de la fièvre continue. Vingt unités sont fixées avec l'antigène méthylique et un antigène préparé avec le BCG; avec l'antigène Besredka, la réaction est fortement positive.

En second lieu, la cuti-réaction devient positive le vingt-huitième jour après la première inoculation, alors qu'elle était négative le vingt et unième jour, dernier jour de l'apyrexie. Cette cuti-réaction fut particulièrement brutale; en vingt-quatre heures elle présentait une large surface papulo-érythémateuse de 40 millimètres de large. Une cuti-réaction au bouillon glycérimé de Boquet était même légèrement positive (1).

La réaction de Vernes à la résorcine s'élevait parallèlement du chiffre de 14 au chiffre de 72 (dixième jour de la fièvre).

Par la suite, la température commence à présenter des oscillations de plus grande amplitude, puis elle cède, et l'apyrexie devient à peu près parfaite après un mois de fièvre continue.

(1) JEAN TROISIER et M. MONNEROT-DUMAINE : Les limites de la spécificité de la cuti-réaction tuberculinique. *Revue de la Tuberculose*, XI, n° 4, avril 1930.

Aussitôt, l'état général s'améliore, la courbe du poids se relève (gain de 4 kilogrammes en un mois), le sang redevient normal, la mononucléose ayant disparu, tandis que les réactions biologiques se maintiennent positives : ascension des anticorps (40 unités BCG), baisse progressive de la réaction à la résorcine (66, puis 40), atténuation de la cuti-réaction.

Le malade sort de l'hôpital, sans aucune anomalie ther-

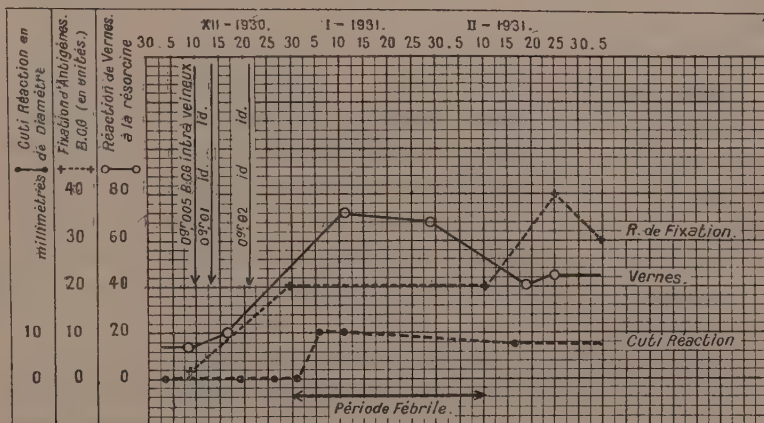


FIG. 7. — Réactions à la tuberculine, anticorps tuberculeux et réaction de Vernes à la résorcine au cours de la typho-bacillose humaine expérimentale.

mique ou respiratoire. Il a été revu huit mois après, en parfaite santé, ayant travaillé sans discontinuer depuis sa sortie de l'hôpital.

*
* *

La typho-bacillose expérimentale de l'homme se rapproche ainsi singulièrement de la typho-bacillose expérimentale du singe : même fièvre continue de plusieurs septénaires, même splénomégalie modérée, même mononucléose sanguine, même apparition en pleine maladie des anticorps tuberculeux. On doit noter cependant deux différences : la première est l'allongement considérable de la période d'incubation apyrétique chez l'homme (onze à vingt jours), se rapprochant de ce qui se passe chez les bovidés (treize à quatorze jours sur les veaux de

Calmette et Guérin); la seconde est la précision des réactions à la tuberculine, nettement appréciable par la cuti-réaction, alors qu'elle est déficitaire sur le singe. Il ne s'agit pas là d'un fait spécial au BCG ; le singe inférieur ne réagit pas à la tuberculine.

*
* *

Reste à considérer maintenant comment nos expériences peuvent éclairer la pathogénie de la typho-bacilliose spontanée de l'homme.

Nous avons vu qu'à l'heure actuelle la radiographie bien interprétée permet de reconnaître presque à coup sûr dans la typho-bacilliose des lésions locales des champs pulmonaires ou de la région des ganglions trachéo-bronchiques. Nos expériences, montrant que le syndrome « typho-bacilliose » peut se constituer après une simple injection intraveineuse sans « complexe primaire », infirment-elles cette conception ? Nous ne le croyons pas.

Certes, dans l'infection naturelle de l'homme, il semble bien qu'un foyer originel soit presque indispensable pour le développement ultérieur de la maladie. On ne connaît pas avec certitude de septicémie tuberculeuse d'emblée, sauf pour le fœtus.

Le même problème s'est posé il y a longtemps pour la syphilis de l'adulte. Que n'a-t-on pas écrit sur la syphilis sans chancre, sur la « syphilis décapitée » !

A l'heure actuelle, les faits nombreux et probants de syphilis par transfusion sanguine ont montré la réalité incontestable de la syphilis décapitée.

Nous croyons que c'est dans le même esprit qu'il faut interpréter nos expériences. Elles ne prouvent pas que la typho-bacilliose soit spontanément une infection directe par le sang. Elles démontrent seulement que tout le cortège symptomatique de la typho-bacilliose peut être constitué sans le complexe primaire, sans le chancre et l'adénopathie régionale. En un mot, on peut déterminer sur le singe et même sur l'homme une typho-bacilliose sans chancre d'inoculation, une *tuberculose* « décapitée », pathogéniquement identique à la syphilis par transfusion sanguine.

Ajoutons en terminant que ces expériences prouvent une

fois de plus la parfaite innocuité du BCG pour le singe et pour l'homme : ce germe paraît décidément incapable de remonter de virulence et de récupérer son pouvoir caséogène.

CONCLUSIONS.

I. L'injection intraveineuse de 2 centigrammes de BCG chez le jeune babouin neuf provoque après une courte période d'incubation une fièvre continue aux alentours de 40° pendant deux à trois septénaires.

II. Cette typho-bacillose s'accompagne de mononucléose sanguine et d'une réaction de fixation positive.

III. La maladie des singes se termine par une guérison durable.

IV. A sa suite se développe un état de prémunition au cours duquel une nouvelle injection intraveineuse de BCG provoque une réaction thermique différente de la première (allergie thermique). Au lieu d'une fièvre continue, on observe une fièvre discontinue, sans incubation, évoluant en deux temps.

V. Chez l'homme adulte, indemne de tuberculose occulte, l'injection intraveineuse (en trois fois) de 3 centigrammes 1/2 de BCG provoque après une longue incubation (onze à vingt jours) une typho-bacillose d'un mois de durée.

VI. Cette typho-bacillose, identique à la maladie humaine spontanée, s'accompagne de mononucléose, de splénomégalie, d'hyposérinémie.

VII. La réaction de fixation devient positive dès le début de la phase de fièvre continue de l'homme.

La cuti-réaction à la tuberculine est franchement positive le vingt-huitième jour après la première injection.

La réaction de Vernes s'est élevée du chiffre photométrique de 14 à 72 pour descendre ensuite à 66, puis à 40.

VIII. Cette typho-bacillose expérimentale humaine est restée bénigne : la guérison parfaite a été contrôlée huit mois après la maladie.

IX. Analogue à la syphilis par transfusion sanguine, véridable syphilis décapitée, la typho-bacillose expérimentale peut être considérée comme une « tuberculose décapitée », sans chancre d'inoculation, ni adénopathie régionale.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA GASTRO-ENTÉRITE INFECTIEUSE DES CHATS

par Ach. URBAIN.

INTRODUCTION.

La gastro-entérite infectieuse des chats est une maladie très contagieuse, susceptible d'atteindre en quelques semaines tous les chats d'une contrée. C'est ainsi qu'en Angleterre, de 1919 à 1922, elle a sévi avec une grande intensité, un million de chats auraient succombé à son atteinte.

Ces dernières années, la gastro-entérite infectieuse s'est manifestée dans la région parisienne où elle a causé une véritable hécatombe de chats. En outre, elle est apparue simultanément dans d'autres régions de la France : le Centre, le Midi, le Nord, l'Ouest, où elle a provoqué des pertes nombreuses.

Nous avons observé, au cours des années 1931-1932, un très grand nombre de cas de gastro-entérite infectieuse du chat qui nous ont permis de faire quelques recherches sur cette affection. Ces recherches ont porté plus spécialement sur l'étiologie, les espèces sensibles, la conservation et la vitalité du virus, les rapports de la gastro-entérite infectieuse avec le typhus des carnassiers de la Ménagerie, et enfin, l'immunisation des chats contre cette infection.

ÉTIOLOGIE.

Des recherches bactériologiques assez nombreuses ont été effectuées pour mettre en évidence l'agent de la gastro-entérite infectieuse des chats,

Dès 1900, Zchokke (1) a attribué à une variété assez virulente de colibacille, isolée de l'organisme de chats morts de

(1) ZCHOKKE. *Schweiz. Arch. für Tierheilk.*, 42, 1900, p. 20.

l'affection, le pouvoir de provoquer chez le jeune chat une angine croupale compliquée de lésions intestinales.

Schmul (1907) [1] a obtenu, de lésions de 18 chats morts de gastro-entérite, de nombreux germes : cocci et bâtonnets Gram-positifs et négatifs dont il a fait une étude bactériologique complète. Pour cet auteur, le colibacille serait aussi à l'origine de la maladie.

Reichel et Mumma (1913) [2] font des constatations analogues. Ils ont fait l'étude bactériologique de divers germes rencontrés dans le sang et les organes de 24 chats ayant succombé à l'affection. Ils ont rencontré fréquemment un bacille paratyphique susceptible de tuer le chat par ingestion.

Robin (1928) [3] a trouvé aussi dans le sang du cœur d'un chat ayant succombé à la gastro-entérite infectieuse un coli-bacille.

En 1928, Verge et Cristoforoni (4) ont décelé dans l'organisme d'un chat infecté la présence d'un virus filtrable avec lequel ils ont pu infecter un autre chat, sans pouvoir cependant reproduire en série la gastro-entérite infectieuse chez ces animaux, un second essai d'infection n'ayant provoqué, en effet, chez un autre chat que des troubles passagers.

E. Hindle et G. M. Findlay (5) ont fait une étude bactériologique complète de la « maladie » des chats, qui par certains signes cliniques se rapproche de la gastro-entérite infectieuse. Ils ont obtenu toute une série de germes des organes et du sang d'un certain nombre de chats morts de l'affection : *Salmonella*, colibacilles, streptocoques, *Pasteurella*, bacille de l'influenza. Ils considèrent ces microbes comme des germes de sortie, n'ayant aucun rôle dans l'étiologie de la maladie des chats. Par contre, ils ont constaté que cette maladie pouvait être aussi transmise par des filtrats d'émulsions d'exsudats nasaux, ou de rate, ou de ganglions mésentériques (les filtrations étaient effectuées sur bougie Berkefeld). Ces filtrats étaient inoculés à de jeunes chats par la voie cérébrale, par la voie sous-cutanée, ou par instillation intranasale.

(1) SCHMUL. *Arch. für prak. und Wis. Tierheilk.*, 33, 1907, p. 445.

(2) REICHEL et MUMMA. *Amer. Veter. review*, 1913, p. 514.

(3) ROBIN. *Bull. Soc. Vétér. pratique de France*, 1928, p. 94, 135 et 700.

(4) VERGE et CRISTOFORONI. *Rev. méd. Vétér.*, juillet 1928, p. 365.

(5) E. HINDLE et G. M. FINDLAY. *Journ. Comp. Path. and Ther.*, 40, mars 1932, p. 11, et *Proc. of the royal Soc. Med.*, 26, janvier 1933, p. 197.

*
* *

Nous avons mis à profit plusieurs épidémies de gastro-entérite infectieuse pour rechercher l'agent causal de cette maladie. Nous avons obtenu à diverses reprises, des organes et du sang du cœur des chats ayant succombé à l'infection, divers germes aérobies : colibacille (4 fois), bacille paratyphique B (2 fois), streptocoques (1 fois), *Pasteurella* (1 fois). L'inoculation de cultures de ces microbes à de jeunes chats, même à doses élevées, est restée sans effet à l'exception des cultures de streptocoques qui tuaient régulièrement cet animal, mais sans reproduire les signes habituels de la maladie. Nous avons donc considéré ces germes comme les agents d'infections secondaires, et nous avons abandonné leur étude.

Dans une autre série de recherches, nous avons essayé de mettre en évidence un virus filtrable dans les divers organes ou humeurs des chats ayant succombé à l'infection. Nos recherches ont été effectuées de la façon suivante : on prélève aseptiquement du sang du cœur, des fragments de rate, de foie, de reins, de cerveau, des ganglions mésentériques ; le sang est dilué à 1 p. 10 dans de l'eau physiologique ; les organes sont broyés dans un mortier, puis émulsionnés dans de l'eau physiologique à 9 p. 1.000, à raison de 1 partie d'organe pour 9 d'eau. Toutes ces émulsions sont filtrées sur papier Chardin, puis ensuite sur bougie Chamberland L3. Cette dernière filtration est effectuée en présence d'une culture de *Pasteurella* aviaire ; elle dure de dix à quinze minutes, sous un vide de 30 centimètres de mercure. La stérilité des filtrats ainsi obtenue est contrôlée par ensemencement sur divers milieux de culture. Puis, on inocule, sous la peau, ces filtrats à une série de jeunes chats de un à deux mois.

Le chat n° 1 reçoit 4 cent. cubes du filtrat du sang ; le chat n° 2, 4 cent. cubes du filtrat de rate ; le chat n° 3, 4 cent. cubes du filtrat du foie ; le chat n° 4, 4 cent. cubes du filtrat du rein ; le chat n° 5, 4 cent. cubes du filtrat du cerveau ; le chat n° 6, 4 cent. cubes du filtrat des ganglions mésentériques. Tous les animaux sont ensuite isolés et soumis à une surveillance quotidienne. Huit jours après l'injection, le chat n° 1 présente de

la tristesse, de l'inappétence, il a des vomissements, il meurt dans la nuit. A l'autopsie, on trouve des lésions de gastro-entérite. Le dixième jour, les chats n^{os} 2 et 6 meurent après avoir eu de la diarrhée et des vomissements. Ils présentent aussi à l'autopsie des lésions nettes de gastro-entérite. Les trois autres chats, n^{os} 3, 4 et 5, c'est-à-dire ceux ayant reçu les filtrats de foie, de reins et de cerveau, survécurent. Le sang du cœur et la moelle osseuse des trois chats ayant succombé, ensemencés sur gélose et bouillon, donnèrent un résultat négatif.

Nous avons essayé ensuite de reproduire la maladie en série chez les chats. A cet effet, le sang du cœur du chat n^o 1, dilué à 1 p. 10, est filtré sur bougie Chamberland L3. Le filtrat est inoculé à raison de 4 cent. cubes sous la peau d'un jeune chat. Dix jours après, cet animal refuse toute alimentation ; il a un peu de diarrhée ; il meurt le onzième jour. A l'autopsie, on trouve des lésions nettes de gastro-entérite. Le sang du cœur ensemencé sur gélose et bouillon fournit un résultat négatif. On prélève sur le cadavre une certaine quantité du sang du cœur, celui-ci est filtré dans les mêmes conditions que précédemment sur bougie Chamberland L3. Le filtrat est ensuite inoculé, à raison de 4 cent. cubes, sous la peau d'un jeune chat, il provoque sa mort en huit jours, avec tous les signes de la gastro-entérite.

L'absence de jeunes chats ne nous a pas permis de poursuivre plus loin les passages en série que nous aurions voulu réaliser sur ces animaux.

*
* *

Dans d'autres expériences, nous avons confirmé que le virus de l'affection siège principalement dans le sang, la rate et les ganglions abdominaux. Nous avons pu reproduire, en série, la gastro-entérite chez de jeunes chats en faisant varier les voies d'introduction : sous-cutanée, cérébrale, abdominale ou veineuse.

Voici quelques-unes de nos expériences :

1^o Un chat âgé d'un mois reçoit par la voie cérébrale 1/4 de cent. cube du filtrat d'une émulsion de rate virulente ; huit jours après, il succombe après avoir présenté de la diarrhée. On prélève sur le cadavre du sang du cœur ; celui-ci est filtré

comme nous l'avons indiqué précédemment. Le filtrat est inoculé à raison de 4 cent. cubes sous la peau d'un jeune chat; celui-ci meurt en dix jours, avec les signes habituels de la gastro-entérite.

2° Un jeune chat de deux mois reçoit par la voie abdominale 4 cent. cubes du filtrat d'une émulsion de rate prélevée sur un chat venant de succomber à une atteinte de gastro-entérite. Il meurt en dix jours, après avoir présenté de la tristesse, des vomissements, de la diarrhée. La rate de cet animal, prélevée dès la mort, se montre virulente. Le filtrat d'une émulsion à 1 p. 10 de cet organe inoculé par la voie sous-cutanée à un jeune chat provoque sa mort en huit jours avec les signes habituels de la gastro-entérite.

3° On inocule par la voie veineuse, à un chat de deux mois, 2 cent. cubes d'une émulsion de ganglions abdominaux provenant d'un chat ayant succombé à une infection expérimentale. L'animal meurt en dix jours de gastro-entérite typique. Le sang du cœur et la rate prélevés dès la mort se sont montrés virulents, c'est-à-dire susceptibles d'infecter de jeunes chats (par inoculation sous-cutanée du filtrat du sang ou de l'émulsion de rate).

*
* *

Nous avons recherché d'autre part si le virus de la gastro-entérite infectieuse des chats était susceptible de s'éliminer par la *salive*, l'*urine* et les *matières fécales*.

Une expérience préliminaire nous a permis de constater que ces divers produits pathologiques étaient très contagieux; les aliments souillés avec la salive, l'urine ou les matières fécales donnent très régulièrement la maladie aux jeunes chats qui les absorbent.

Voici les détails de quelques-unes de ces expériences :

a) On alimente, pendant trois jours, deux jeunes chats avec une pâtée qui est additionnée de salive prélevée sur des chats à la période préagonique. Ces deux animaux tombent malades au bout de huit jours, ils présentent de la tristesse, de la diarrhée. L'un d'eux meurt, l'autre se rétablit. A l'autopsie du chat qui a succombé on note une congestion accusée du petit intestin. La rate se montre virulente; le filtrat de l'émulsion

de cet organe (4 cent. cubes) inoculé à un jeune chat, par la voie sous-cutanée, provoque sa mort en dix jours avec les symptômes habituels de la gastro-entérite.

b) Un jeune chat d'un mois reçoit, pendant trois jours, du lait additionné d'urine (10 grammes dans 50 grammes de lait). Cette urine a été prélevée dans la vessie d'un chat mort de l'affection. Le onzième jour l'animal devient triste, il a des vomissements; le douzième jour on le trouve mort dans sa cage. A l'autopsie on constate de la congestion de l'estomac et du petit intestin.

Le filtrat du sang du cœur (4 cent. cubes) est injecté, par la voie sous-cutanée, à un chat de deux mois; celui-ci meurt de gastro-entérite, le huitième jour.

c) On fait absorber, pendant quatre jours, à deux jeunes chats, une pâtée renfermant une quinzaine de grammes du contenu de l'intestin de chats morts de gastro-entérite. Le onzième jour, ces deux animaux deviennent tristes, somnolents, ils ont un peu de diarrhée; ils meurent le douzième jour.

On note à l'autopsie chez ces deux animaux une congestion nette du petit intestin. Le filtrat de l'émulsion de la rate d'un de ces animaux est inoculé à un jeune chat, par la voie abdominale, à la dose de 4 cent. cubes; le chat succombe à une gastro-entérite typique en douze jours.

Dans une autre série d'expériences nous avons recherché la présence d'un virus filtrable dans les produits pathologiques.

La *salive* a été prélevée à la période agonique chez quatre jeunes chats, soumis à l'action de la pilocarpine, diluée à 1 p. 5, elle a été ensuite filtrée. Le filtrat a été injecté à raison de 5 cent. cubes, sous la peau, à deux chats; un de ces animaux est tombé malade le huitième jour; il est mort le dixième; l'autre a succombé le douzième jour en ne présentant que de la somnolence.

A l'autopsie de ces animaux on a trouvé de la congestion du petit intestin. Leur rate s'est montrée virulente; le filtrat de l'émulsion de cet organe, injecté sous la peau à des jeunes chats, provoque une gastro-entérite typique mortelle.

L'*urine* recueillie aseptiquement dans la vessie, dès la mort d'un chat infecté expérimentalement, a été trouvée virulente,

à la condition d'être utilisée dès son prélèvement; au bout de vingt-quatre heures, même conservée à la glacière, elle perd son pouvoir infectant. Voici une de nos expériences :

Un jeune chat reçoit sous la peau 4 cent. cubes du filtrat d'urine prélevée dès la mort de l'animal; il succombe le huitième jour à une gastro-entérite grave.

Un chat âgé d'un mois reçoit sous la peau 4 cent. cubes de la même urine, filtrée après être restée à la glacière vingt-quatre heures; *il survit*.

Enfin, des *matières fécales*, prélevées dès la mort de l'animal, ont été émulsionnées à raison de 20 grammes pour 50 cent. cubes d'eau physiologique, laissées une heure à la glacière, puis filtrées. Le filtrat injecté, à la dose de 5 cent. cubes, à deux jeunes chats, a provoqué chez ces deux animaux une crise typique de gastro-entérite qui a été mortelle dans un cas.

ESPÈCES SENSIBLES.

Nos recherches ont été faites sur le chat, le chien, la panthère, le lapin, le cobaye, la souris, le rat blanc et différents oiseaux (poule, pintade, canard).

Le chien, le lapin, le cobaye, la souris, le rat blanc, la poule, la pintade et le canard, se sont montrés réfractaires à l'affection. Nous avons injecté, en effet, à ces animaux des doses élevées de virus par les voies sous-cutanées, péritonéales ou veineuses, sans résultats.

Seul le chat est sensible à ces inoculations.

Nous avons pu tenter aussi un essai d'infection sur une jeune *panthère* de six mois. Nous lui avons inoculé sous la peau 10 cent. cubes du filtrat d'une émulsion de rate virulente; elle est restée indemne; alors qu'un jeune chat éprouvé, par la même voie, avec 4 cent. cubes du même filtrat, a présenté en dix jours de la gastro-entérite typique; il est mort le douzième jour.

CONSERVATION ET VITALITÉ

DU VIRUS DE LA GASTRO-ENTÉRITE INFECTIEUSE DES CHATS.

a) ACTION DE LA GLYCÉRINE, DU LAIT ET DE L'EAU. — Nous avons pu constater que le virus de la gastro-entérite infectieuse des

chats est susceptible de se conserver dans la glycérine pure ou diluée à 50 p. 100, se comportant ainsi comme les ultra-virus de la vaccine, de la rage, de la poliomyélite et de l'herpès.

Des fragments de rate ou des ganglions abdominaux prélevés aseptiquement dès la mort d'un animal, placés dans la glycérine et maintenus dans la glacière, restent virulents de trente-cinq à cinquante jours.

Dans le *lait* ou l'*eau physiologique*, ces organes ne gardent leur virulence que quatre à cinq jours.

b) ACTION DE LA DESSICCATION. — Si l'on soumet le sang, la rate ou les ganglions abdominaux, à une dessiccation dans le vide sulfurique, en présence de potasse ou de pentoxyde de phosphore, le virus de l'affection perd rapidement son activité. La poudre provenant du sang a été susceptible, une fois sur quatre essais, de donner l'infection à un jeune chat, après cinquante-six heures de préparation; la poudre de rate et des ganglions reste virulente quatre à huit jours, suivant les échantillons.

Il semble donc que la dessiccation, contrairement à ce qui a été constaté pour d'autres ultra-virus, et en particulier pour l'herpès, atténue fortement le virus de la gastro-entérite.

c) ACTION DE LA TEMPÉRATURE. — Le virus étudié, comme d'autres ultra-virus et celui de l'herpès en particulier, perd sa virulence si on le soumet à des températures relativement basses. Nous avons constaté qu'un chauffage à 56°, au bain-marie, pendant une demi-heure, rend inactive une émulsion virulente de rate prélevée sur un chat mort de l'affection. A 37°, le virus perd son activité au bout de quarante-huit heures; à 100°, il est détruit en une minute.

RAPPORT DU TYPHUS DES CARNASSIERS DE MÉNAGERIE AVEC LA GASTRO-ENTÉRITE INFECTIEUSE DES CHATS.

Il existe chez les animaux carnassiers de Ménagerie une maladie très contagieuse s'apparentant avec la gastro-entérite infectieuse ou le typhus du chien et qui par certains autres de ses caractères rappelle aussi beaucoup la gastro-entérite infec-

tieuse du chat. Cette affection est communément désignée sous le nom de *typhus des carnassiers de ménagerie*.

Nous rappellerons que, pour quelques auteurs : Lukes (1), Lukes et Derbek (2), Panisset et Verge (3), le typhus du chien serait sous la dépendance d'un spirochète que l'on peut déceler sur des frottis du foie, de la rate ou des reins des animaux morts de l'affection.

Le typhus des carnassiers domestiques, bien décrit par Mouquet (4), a sévi à diverses reprises à la Ménagerie du Muséum.

Au cours de l'année 1932, il nous a été permis d'étudier une petite épidémie ayant porté sur une quinzaine de jeunes animaux : panthères, lionceaux, guépards. Nous avons eu à enregistrer la perte de 3 panthères, 2 lionceaux, 1 guépard.

Les animaux gais, pleins d'entrain, deviennent subitement tristes; ils se mettent dans un coin de leur loge, puis ils ont des vomissements; une diarrhée abondante apparaît ensuite, verdâtre ou jaunâtre souvent striée de sang en nature; la température, élevée au début (41°), s'abaisse rapidement, elle tombe parfois à 36° et l'animal meurt en douze à dix-huit heures.

A l'autopsie, on trouve des lésions gastro-intestinales étendues : l'estomac et toute la masse de l'intestin sont très fortement congestionnés; la muqueuse de l'estomac présente souvent des ulcérations, réparties surtout dans la région pylorique. Le foie, la rate et surtout les reins sont aussi très congestionnés. La vessie renferme fréquemment une urine sanglante, contenant des caillots noirâtres.

*
* *

Avec la collaboration de P. Lassablière et E. Voignier, nous avons entrepris diverses recherches bactériologiques en vue de mettre en évidence l'agent de l'affection.

L'ensemencement du sang du cœur, de la moelle osseuse, du cerveau, dans divers milieux de culture, est resté stérile ou

(1) LUKES, Sur la présence de spirochètes dans un cas de gastro-entérite hémorragique chez le chien. Ces *Annales*, 38, 1924, p. 523.

(2) LUKES et DERBEK, Zur aetiologie der Stuttgarter Hundeseuche. *T. archiv.*, 1923, p. 25.

(3) PANISSET et VERGE (J.), Présence de spirochètes chez des chiens atteints de gastro-entérite hémorragique. *C. R. Acad. Sc.*, 160, 1925, p. 1296.

(4) MOUQUET. Animaux de ménagerie. Notes de pathologie. *Thèse Vétér.*, Paris, 1923.

n'a montré que des germes banaux : une fois du colibacille, une autre fois du streptocoque. Ces deux microbes n'étaient pas pathogènes pour les différents animaux de laboratoire : souris, rats, cobayes, lapins et jeunes chiens auxquels ils furent injectés à haute dose, par la voie sous-cutanée, intraveineuse ou péritonéale.

D'autre part, dans aucun cas, il n'a pu être décelé sur des frottis — obtenus par impression — du foie, de la rate et des reins, après imprégnation argentique, selon la méthode classique de Fontana-Tribondeau, la présence d'un spirochète.

Dans d'autres recherches, nous avons tenté de mettre en évidence un virus filtrable dans le sang ou divers organes (foie, rate, reins) d'animaux ayant succombé à l'affection. La technique que nous avons utilisée a été la suivante :

Le sang du cœur, des fragments de rate, de foie ou de reins sont prélevés aseptiquement. Le sang est dilué à 1 p. 10 dans de l'eau physiologique ; les organes sont broyés aseptiquement dans un mortier puis émulsionnés aussi dans de l'eau physiologique à raison d'une partie d'organe pour neuf de liquide. Cette émulsion est filtrée sur papier Chardin, puis ensuite sur bougie Chamberland L3. Cette dernière filtration est effectuée en présence d'une culture de *Pasteurella* aviaire ; elle dure 10 minutes sous un vide de 30 cent. cubes de mercure. La stérilité du filtrat est recherchée par ensemencement sur divers milieux de culture.

Ces filtrats furent ensuite inoculés, sous la peau, à divers animaux de laboratoire : cobayes, souris, chats, chiens.

Les cobayes recevaient 4 cent. cubes de chacun des filtrats : sang, foie, rate ou reins ; les souris : 1 cent. cube ; les chats et les chiens 5 cent. cubes.

Tous ces animaux, mis en surveillance pendant deux mois, survécurent, à l'exception de 2 cobayes et d'un chat, qui succombèrent des suites d'infections secondaires (Pasteurellose).

*
* *

En résumé, il résulte de ces recherches que le typhus des carnassiers de ménagerie ne paraît pas être sous la dépendance d'un spirochète. Elles ne nous ont pas permis, en outre, de

déceler, dans les organes examinés, la présence d'un virus filtrable. Il est indispensable de renouveler ces recherches avant de conclure d'une façon définitive sur l'absence de ce virus. Nous nous réservons de les poursuivre dès l'apparition d'une nouvelle épidémie.

La seule conclusion qu'il nous soit permis de tirer de ce que nous venons d'exposer, c'est que cette affection est sûrement différente de la gastro-entérite infectieuse des chats. En effet, aucun de ces animaux n'a pu être infecté avec le filtrat des organes des carnassiers ayant succombé au typhus.

IMMUNISATION DES CHATS CONTRE LA GASTRO-ENTÉRITE INFECTIEUSE.

Étant donné le caractère très contagieux de la gastro-entérite infectieuse et la rapidité de son extension à presque tous les jeunes chats d'une région, nous avons recherché un procédé d'immunisation contre cette grave infection.

Nous basant sur les recherches de Lebailly (1) qui, en utilisant une émulsion de rate formolée a réussi à provoquer chez le chien une immunisation active contre le virus de la maladie du jeune âge, nous avons tenté de vacciner un certain nombre de chats contre la gastro-entérite infectieuse, par un procédé analogue (2).

Pour obtenir ce vaccin, nous opérons de la façon suivante : Sur un chat venant de succomber des suites de gastro-entérite infectieuse, la rate est prélevée aseptiquement, pesée sur un linge stérile et broyée dans un mortier avec du sable stérile. Le produit de broyage est émulsionné dans de l'eau physiologique à raison de 1 gramme d'organe pour 10 cent. cubes de liquide. Cette émulsion est additionnée de 2 p. 1 000 de formol du commerce, puis elle est laissée quarante-huit heures à la température du laboratoire. Après avoir vérifié sa stérilité, par ensemencement sur divers milieux de culture, l'émulsion formolée est répartie en ampoules de 2 cent. cubes et mise à la glacière.

On peut inoculer ce vaccin à raison de 2 cent. cubes par la

(1) *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1^{er} août 1927, p. 370.

(2) Rappelons que le vaccin formolé contre certaines maladies à virus filtrable a été utilisé avec succès par divers auteurs : Vallée, Carré et Rinjard (1925) contre la fièvre aphteuse; Curasson et Delpy (1926) contre la peste bovine; Plantureux (1926) contre la rage; Staub (1926) contre la peste aviaire, etc.

voie sous-cutanée, à un chat, sans que celui-ci réagisse. On note simplement, le lendemain, au point d'inoculation, de la rougeur et un peu d'œdème qui disparaît rapidement.

Nous avons pu, au cours d'une première épidémie, injecter à 3 jeunes chats, deux fois 2 cent. cubes de vaccin formolé, à cinq jours d'intervalle. Ces animaux et un jeune chat non vacciné ont été mis ensuite, dix jours après la dernière injection, au contact d'un animal malade. Gardés en observation pendant plus d'un mois, les chats vaccinés sont restés en bonne santé, alors que le chat témoin a présenté, neuf jours après son contact avec le malade, une gastro-entérite très grave; il est mort le onzième jour.

Dans une deuxième épidémie, nous avons renouvelé cette vaccination sur 4 jeunes chats. Ces animaux ont été traités par le vaccin formolé, comme dans la première expérience, puis ils ont été alimentés pendant deux jours, ainsi que 2 jeunes chats non vaccinés, avec du lait et une pâtée renfermant de la salive et de l'urine d'un malade ayant succombé à une gastro-entérite infectieuse. Les animaux vaccinés, observés pendant un mois et demi, n'ont présenté rien d'anormal, alors que les deux chats témoins ont montré de la gastro-entérite respectivement le neuvième et le dixième jour qui a suivi l'infection; ils sont morts tous les deux en dix-huit heures.

Il résulte donc de ces recherches, qu'en utilisant un vaccin constitué par une émulsion de rate formolée, préparée suivant le procédé que nous avons indiqué, il est possible d'immuniser solidement, contre la gastro-entérite infectieuse, les chats mis dans les conditions habituelles de l'infection spontanée.

CONCLUSIONS.

1° La gastro-entérite des chats est sous la dépendance d'un virus filtrable. Ce virus peut être principalement décelé dans le sang, la rate et les ganglions abdominaux des animaux ayant succombé à l'infection. Il existe aussi dans la salive, l'urine et les matières fécales des chats malades;

2° La maladie peut être expérimentalement reproduite chez les jeunes chats en inoculant le virus par la voie sous-cutanée, cérébrale, péritonéale ou veineuse;

3° La panthère, le chien, le lapin, le cobaye, la souris, le rat blanc, la pintade, la poule et le canard sont réfractaires au virus de la gastro-entérite infectieuse; seul le chat est sensible à ce virus;

4° Le virus de la gastro-entérite est susceptible de se conserver dans la glycérine pure ou diluée à 50 p. 100, de trente-cinq à cinquante jours. Dans le lait ou l'eau physiologique il garde son activité quatre à cinq jours;

5° Soumis à une dessiccation dans le vide sulfurique, le sang, la rate ou les ganglions abdominaux perdent rapidement leur virulence; celle-ci ne persiste que cinquante-six heures pour le sang et que quatre à huit jours pour la rate et les ganglions;

6° Le virus de la gastro-entérite est tué par un chauffage d'une minute à 100°, de trente minutes à 56° et de quarante-huit heures à 37°;

7° Le typhus des carnassiers de ménagerie est différent de la gastro-entérite infectieuse des chats domestiques, aucun de ces animaux ne pouvant être infecté avec le filtrat des organes des carnassiers ayant succombé au typhus;

8° En utilisant un vaccin constitué par une émulsion de rate formolée à 2 p. 1.000, il est possible d'immuniser solidement contre la gastro entérite infectieuse les chats mis dans les conditions habituelles de l'infection spontanée.

RECHERCHES HISTO-PATHOLOGIQUES SUR LA MALADIE DES JEUNES CHIENS (MALADIE DE CARRÉ)

par G. MARINESCO, STATE DRAGANESCO et G. STROESCO
(de Bucarest).

La maladie dont nous allons nous occuper dans ce travail est une des affections les plus anciennement connues. Les recherches récentes sur les infections neurotropes nous ont incités à nous occuper de cette maladie, surtout en vue de préciser sa place entre les affections à localisation primitive ou seulement prédominante dans le système nerveux.

On sait que la maladie de Carré est contagieuse, elle s'observe d'une façon épidémique (épidémies saisonnières, surtout automnales et printanières) ou sporadique, surtout chez les chiens. Certains observateurs l'ont notée aussi chez le renard, le loup, la hyène, le singe, etc. On avait cru qu'elle était l'apanage du jeune âge de ces animaux mais on a vu (Leclainche) qu'à côté du facteur âge le facteur race joue un rôle autrement important. Les chiens plus racés sont beaucoup plus sensibles à l'infection que les autres. La maladie a pu être inoculée d'une façon expérimentale par Carré qui a montré que la sécrétion nasale de début, l'exsudat pleural, péricardique, péritonéal, de même que le sang, au moment culminant de l'ascension thermique peuvent transmettre la maladie. Carré a inoculé de tels produits filtrés sur bougie Chamberland surtout chez des jeunes chiens, et, après un intervalle de trois, quatre jours, il observait l'éclosion de l'infection. Ce fait, établi en 1903, a été ensuite confirmé en 1924 et en 1926 par le même auteur et par une série d'autres chercheurs (Lührs, Robin et Vechiu et surtout Dunkin et Laidlaw), démontrant que l'agent pathogène est un ultra-virus. La maladie a pu être transmise aux chiens, aux chats. Chez ces derniers, Laossen et récemment A. Chirila, Robin et Vechiu se sont servis du liquide céphalo-rachidien

prélevé sur des cas aigus à forme nerveuse. Vechiu également a réussi à reproduire l'infection avec des filtrats d'urine et même de liquide céphalo-rachidien extrait des animaux ayant une forme chronique et avec une émulsion cérébrale filtrée des mêmes cas chroniques; Lührs (1926) a obtenu des inoculations positives avec le contenu des pustules; Dunkin et Laidlaw avec du sang et de la pulpe splénique, en injections sous-cutanées. Les inoculations réussissent surtout avec du sang et des émulsions de substance nerveuse ou splénique. Tous les expérimentateurs ont constaté que la maladie débute après une incubation de trois jours, par une élévation de température, une sécrétion séreuse nasale et oculaire, un catarrhe des voies pulmonaires et intestinales et parfois des vésico-pustules sur le ventre et la partie interne des cuisses. On a des résultats positifs seulement dans 10 p. 100 des cas. Les manifestations broncho-pulmonaires, qui apparaissent toujours dans la deuxième phase de la maladie, ont été considérées par la plupart des auteurs comme dues à des microbes de sortie ou d'association. Dans les cas graves d'infection expérimentale les animaux succombaient entre la première et la troisième semaine. Par certains caractères, la maladie expérimentale pouvait se distinguer de l'infection naturelle. En effet, dans cette dernière les manifestations nerveuses sont plus fréquentes. Les complications broncho-pulmonaires aggravent également la maladie. En somme, cette maladie infectieuse présente, du point de vue des lésions, des localisations multiples : d'une part, une atteinte des surfaces ou systèmes d'origine ectodermique (peau, cornée, système nerveux, etc.), d'autre part de certains viscères (reins, foie) ou même de l'appareil cardio-vasculaire (vaisseaux, myocarde) ou des glandes annexes (rate). Il est difficile certainement de préciser quelle est la lésion primitive, mais depuis toujours, et à juste raison pour cette maladie, on distingue au point de vue clinique deux formes, la forme à prédominance catarrhale et la forme à prédominance nerveuse. Si au point de vue clinique on peut faire cette distinction, au point de vue anatomo-pathologique elle n'est pas justifiée. Déjà en 1912 Cerletti dans une étude sur une trentaine de cas de cette maladie a constaté des lésions importantes du système nerveux dans les deux formes. En effet,

en ce qui concerne les lésions du système nerveux central, la différence entre les formes catarrhale et nerveuse n'est qu'une question de degré. Dans les cas où la symptomatologie nerveuse prédominait, les lésions étaient beaucoup plus considérables que dans les cas à manifestations catarrhales (Cerletti).

Après ces généralités passons maintenant aux faits personnels. Nous avons eu l'occasion d'examiner au point de vue anatomo-pathologique une série de cas de la maladie de Carré, soit à évolution aiguë, soit à évolution subaiguë, qui tous étaient à symptomatologie prédominante nerveuse. On sait la diversité des manifestations du côté du système nerveux dans cette infection; elles traduisent une atteinte diffuse, surtout dans le névraxe. En effet, on constate autant de phénomènes encéphalitiques que de phénomènes médullaires.

Les phénomènes encéphalitiques sont également très variés. Tout d'abord signalons les troubles méningitiques. Ils sont fréquents et cèdent toujours la place, comme il arrive aussi dans d'autres infections neurotropes, aux troubles plus profonds du parenchyme nerveux : cortex cérébral et noyaux centraux. Les symptômes corticaux sont toujours manifestes. Les crises d'épilepsie jacksonienne ou générale et les troubles psychiques s'observent souvent. On décrit même une espèce de paralysie générale dans cette maladie, très explicable d'après Cerletti par les grosses lésions du cortex. Très fréquents sont cependant les troubles traduisant une lésion des noyaux centraux et en général du système extra-pyramidal. Les tremblements des extrémités ou de la tête reconnaissent, fort probablement, cette origine. Les mouvements involontaires et surtout les myoclonies ou plus exactement rythmiques, qu'on voit si souvent dans cette affection dénommée aussi la chorée des chiens, ont également à la base des lésions du système extra-pyramidal comme dans l'encéphalite léthargique. L'hébétude des chiens malades, leur immobilité, si souvent observée, doit également être mise, en partie, sur le compte des lésions extra-pyramidales. Mais la symptomatologie nerveuse n'y est pas strictement limitée à ces aspects. A cause de la diffusion des lésions névraxiques on voit des manifestations multiples. Les mouvements de manège, la chute unilatérale, etc., doivent être en relation avec des lésions cérébello-vestibulaires. Très fréquem-

ment et accompagnant en général ces troubles, on rencontre des paralysies des extrémités d'origine médullaire, avec troubles des réservoirs, escarres, etc. L'affection est parfois douloureuse, les animaux gémissent, ce qui signifie aussi l'atteinte des systèmes sensitifs.

Les cas examinés par nous présentaient, en général, presque toutes les manifestations dont nous avons parlé plus haut. Il s'agissait de chiens qui avaient été sacrifiés après sept à vingt jours de maladie. Chez l'un de nos animaux, une paraplégie associée à des tremblements des extrémités et de la tête s'était installée d'une façon presque brusque (après deux jours d'indisposition). Nous avons étudié le système nerveux et, dans deux cas, les organes de ces animaux, en vue de préciser, comme nous l'avons dit plus haut, quelle est la situation anatomo-pathologique de cette infection, parmi les autres infections neurotropes. Tout en confirmant le tableau histologique trouvé par les autres chercheurs qui nous ont précédés et surtout par Cerletti, nous avons dirigé nos recherches également dans d'autres directions. C'est ainsi que nous avons cherché tout d'abord les lésions histo-pathologiques du système nerveux, essayant d'en tirer des conclusions sur la voie de pénétration du virus et sa propagation dans les centres nerveux. Nous allons essayer d'autre part de préciser le caractère du processus inflammatoire dans cette infection par rapport aux autres infections névraxiques à ultravirus. Enfin, à l'aide des colorations spéciales nous nous sommes appliqués à préciser la question des inclusions intra-cellulaires existant dans cette maladie.

MOELLE. — Il y a toujours un processus inflammatoire méningé qui n'est pas réparti d'une façon uniforme. Il s'agit d'une infiltration lymphocytaire et plasmatique variable au niveau de la pie-mère. Les septa et les vaisseaux qui partent des méninges en pénétrant dans la substance blanche sont également infiltrés (fig. 1); il en est de même autour des racines nerveuses et au niveau des faisceaux radiculaires intramédullaires. A la limite des deux substances médullaires, on remarque une exagération du processus inflammatoire qui se continue d'ailleurs dans la substance grise.

Dans la substance blanche, il existe un processus dégénératif

de caractère aréolaire ou spongieux, variable comme degré. Dans certains cas on trouve seulement quelques lacunes disséminées dans les cordons antéro-latéraux ou même dans les cordons postérieurs, surtout au niveau de la moelle dorsale inférieure ou lombaire. Sur des coupes transversales de la moelle, on voit de tels champs grillagés prédominant dans la zone des deux faisceaux pyramidaux directs et croisés ainsi que dans la zone commissurale des cordons postérieurs. Quelquefois, comme dans la figure 2, presque toute la substance blanche est le siège de cet état grillagé. Les racines postérieures ont un aspect normal. Ce processus dégénératif est récent, voire même aigu, vu l'absence ou la rareté des corps granuleux. Ceux-ci se rencontrent cependant dans les champs pyramidaux, soit *in situ*, soit périvasculaires. Ces champs dégénératifs sont constitués de lacunes plus ou moins nombreuses, conséquence de l'altération des fibres nerveuses, détruites en partie ou détachées par suite des manipulations histologiques. On voit autour de ces petites lacunes, la gaine gliale plus ou moins épaissie. Les coupes longitudinales de la moelle nous permettent de saisir le processus dégénératif des fibres nerveuses et sa relation avec les vaisseaux. La figure 3, qui représente une coupe des cordons postérieurs de la moelle dorsale inférieure montre, dans le parenchyme, de nombreux petits vaisseaux plus ou moins épaissis, sclérosés et infiltrés, et aussi des champs de raréfaction myélinique aboutissant à un état spongieux. Dans la gaine adventitielle de certains vaisseaux on trouve quelques rares corps granuleux. En même temps que ces lésions, il se produit des réactions gliales importantes. Dans les champs lacunaires récents on ne trouve pas de multiplication gliale manifeste, mais plutôt un processus régressif, qui se traduit par une clasmotodendrose nocive avec hypertrophie du corps cellulaire. On a l'impression que le même agent qui a altéré les fibres nerveuses a produit aussi des modifications de la névroglie. En outre, à l'intérieur ou au voisinage des foyers dégénératifs plus anciens ou même sous les méninges, on rencontre de petits nodules où l'élément macroglial et microglial prend une part à peu près égale. Comme on le voit dans la figure 4, représentant un tel nodule, situé près d'un capillaire, en dehors de quelques gros astro-

cytes, il y a d'assez nombreuses cellules microgliales. Certaines d'entre elles sont des cellules en bâtonnet; d'autres ont leur corps plus ou moins gonflé (forme de passage vers le phagocyte). En outre, en pleine nodule, on remarque une masse en apparence syncytiale d'éléments gliaux, à noyau parfaitement arrondi, qui indique un processus actif réparateur.

Dans la substance grise nous pouvons distinguer un processus vasculo-inflammatoire, une réaction névroglique et des altérations des cellules nerveuses.

Le processus inflammatoire périvasculaire, signalé dans la substance blanche, intéresse aussi la substance grise. Il est parfois plus manifeste dans la corne antérieure et à la limite de la substance grise et de la substance blanche. Plus souvent, il atteint une grande intensité dans la corne postérieure et dans la commissure grise. Au niveau de celle-ci et surtout au voisinage de l'épendyme proliféré, presque tous les vaisseaux sont entourés de gros manchons lymphocyto-plasmatiques (fig. 5). En outre les veinules infiltrées sont dilatées tandis que les artérioles ont leurs parois épaissies, hyperplasiées et hyalinisées. Dans le parenchyme nerveux avoisinant l'épendyme, il y a une prolifération microglieuse intense, en général diffuse, mais par places elle constitue de petits foyers. Dans la substance grise et spécialement au niveau de la corne postérieure, on trouve d'abord une intense infiltration périvasculaire et diffuse. Comme on le voit sur la figure 6, les veinules dilatées présentent un manchon constitué presque exclusivement par les cellules plasmiques et de très rares lymphocytes. Les artérioles légèrement infiltrées offrent une hyperplasie marquée de leurs tuniques. De nombreux plasmocytes se disposent aussi le long des capillaires et même dans le tissu interstitiel nerveux. En même temps, on trouve dans la corne postérieure une prolifération de la microglie, surtout en bâtonnet, entre les capillaires infiltrés. Parallèlement à l'abondant processus inflammatoire vasculo-interstitiel et prolifératif microglial, on note une raréfaction myélinique de la corne postérieure et la disparition de nombreuses cellules nerveuses. Les cellules nerveuses conservées ont subi des lésions aiguës : tuméfaction du corps cellulaire, achromatose ou pulvérisation des corpuscules de Nissl, excentricité du noyau, etc. Parfois les cellules

altérées peuvent être la proie des phagocytes qui les entourent, réalisant de la sorte des images de neuronophagie qui ne sont pas caractéristiques. Par conséquent, au niveau de la moelle, dans les cas étudiés par nous, les lésions, étendues non seulement dans la substance grise, mais aussi dans la substance blanche, réalisent un tableau de leuco-polio-myélite.

GANGLIONS SPINAUX. — Dans la plupart des ganglions, nous avons trouvé des lésions presque constantes, consistant en un processus périvasculaire ou même diffus lymphocyto-plasmatique, avec de rares mastocytes, sous la capsule conjonctivale du ganglion. On constate également une multiplication des cellules satellites surtout dans les territoires en relation avec des processus vasculaires pathologiques. Les vaisseaux et les travées conjonctives présentent des altérations qui nous paraissent assez caractéristiques de cette maladie. Si on ne connaissait pas l'âge de la maladie on dirait, d'après l'hyperplasie et l'infiltration des tuniques vasculaires, qu'il s'agit d'une maladie évoluant depuis longtemps. Ce processus, parfois considérable (fig. 7), peut étouffer les cellules nerveuses, mais il n'y a pas de nodules résiduels comme dans la polio-myélite et surtout dans la rage. Dans la racine antérieure, nous avons trouvé une multiplication des noyaux de Schwann, des altérations des fibres nerveuses et même des vaisseaux infiltrés. Les lésions interstitielles inflammatoires, plus discrètes, ont été rencontrées aussi au niveau des ganglions de la chaîne sympathique dorsale et dans les ganglions des nerfs craniens (ganglions de Gasser, jugulaires, etc.).

Nous n'avons pas fait un examen systématique des nerfs périphériques, mais nous avons trouvé des processus infiltratifs avec des lymphocytes ou des cellules plasmatiques dans le nerf mixte à proximité du ganglion spinal.

LE CERVELET nous a montré des lésions constantes dans les cas examinés, aussi bien dans la substance blanche que dans le cortex. Sur des sections colorées pour la myéline, on distingue à l'œil libre des plages désintégratives du centre ovale du cervelet. A l'examen microscopique, on trouve de petites plaques de démyélinisation, ainsi que dans l'axe blanc des lamelles

cérébelleuses. La lésion désintégrative débute autour des vaisseaux; ceux-ci présentent en même temps des manchons leucocytaires. Par l'extension et la fusion des foyers périvasculaires, il en résulte la formation de plages de plus en plus étendues dont il est difficile de saisir la relation avec les vaisseaux. Les processus récents sont caractérisés par un état aréolaire ou criblé, comme on le rencontre à la périphérie des gros foyers. Le centre de ces plages présente une démyélinisation globale, avec d'abondants corps granuleux *in situ* et autour des vaisseaux. Sur des coupes imprégnées par la méthode de Hortega, on distingue dans cette zone, et surtout à la périphérie, de nombreuses transformations de l'élément microglial en corps granuleux. Malgré le processus marqué de désintégration myélinique des fibres nerveuses, les cylindraxes sont moins touchés que les gaines myéliniques. En effet, sur des coupes colorées au Bielschowsky, la plupart des fibres nerveuses apparaissent altérées (aspect moniliforme, boules sur le trajet, et même boules terminales parfois énormes, dissociation neurofibrillaire). Il y a seulement une destruction partielle des fibres nerveuses avec changement d'orientation des cylindraxes conservés. A ce point de vue, les plaques de démyélinisation se rapprochent de celles trouvées dans la sclérose en plaques et dans certaines autres leuco-névrites. Nous ne trouvons pas, même dans le centre de ces lésions, un processus réparateur marqué. Il y a, il est vrai, un réticulum glial avec de rares cellules névrogliques, mais celles-ci présentent une hypertrophie de leur corps protoplasmique, qui, d'autre part, est mal imprégné et pourvu de prolongements en clasmatodendrose. C'est seulement à la périphérie des foyers, et même à une certaine distance, qu'on rencontre des processus progressifs prolifératifs de la microglie. Cela nous montre qu'en plein foyer désintégratif la névroglie aussi est influencée par les produits nocifs du virus. Des lésions importantes se trouvent également au niveau des méninges et de la substance grise du cervelet. Comme on le voit sur la figure 8, les méninges offrent une infiltration considérable lymphocyto-plasmatique qui se poursuit aussi le long de certains vaisseaux pénétrant à travers la zone moléculaire jusqu'au niveau de la couche granulaire. On observe aussi un processus infiltratif dans la zone moléculaire avoisinant les

vaisseaux altérés, qui s'étend même dans la zone granulaire et pénètre par places dans les lamelles de substance blanche correspondante, soit autour des veinules, soit d'une façon diffuse. Cette infiltration en nappe paraît constituée par des lymphocytes et des cellules de microglie. Parallèlement à l'extension de ce processus infiltratif, on constate la production de lésions des cellules nerveuses du cortex cérébelleux. Les plus évidentes se traduisent par des altérations, voire même la disparition des cellules de Purkinje (fig. 8). Les cellules conservées présentent pour la plupart des modifications plus ou moins marquées : épaissement de la membrane nucléaire, dissolution des corpuscules de Nissl, aboutissant à la formation de véritables ombres cellulaires.

BULBE ET PROTUBÉRANCE. — Sur des coupes pour la myéline, on trouve un aspect aréolaire assez marqué au niveau des deux pyramides, à la partie latérale du corps restiforme et même dans la racine descendante du trijumeau. Dans les deux pyramides, les lésions sont légères ; on ne voit pas de corps granuleux dans ces champs, tandis que dans la zone postéro-latérale du bulbe on les trouve en grand nombre provenant de foyers. Il faut remarquer que les autres formations de substance blanche, c'est-à-dire les formations centrales, sont conservées. Le processus de dégénérescence aréolaire est moins marqué au tiers inférieur du bulbe, tandis qu'au niveau du tiers supérieur et au niveau de la protubérance il est très intense, aboutissant même, dans la racine descendante du trijumeau et dans le corps restiforme, à un processus désintégratif avec l'aspect de ramollissement. On peut constater en même temps des lésions manifestes du type inflammatoire. Il s'agit tout d'abord d'un processus méningitique atteignant le maximum à la partie postéro-latérale du bulbe et surtout au point d'entrée des nerfs craniens. Dans le parenchyme nerveux, on trouve une infiltration lymphocyto-plasmatique plus ou moins intense des septa qui partent des méninges et des manchons périvasculaires. Ce processus inflammatoire atteint le maximum dans les zones de désintégration signalées, de sorte qu'il existe une étroite relation entre les altérations myéliniques et les altérations des vaisseaux. Une agglomération d'éléments inflammatoires se

trouve aussi au niveau des plexus choroides, et même sur certains points du plancher du IV^e ventricule. La zone marginale du bulbe, et surtout la partie située immédiatement sous les méninges, offre un processus prolifératif glial très manifeste. Il s'agit surtout d'une réaction des astrocytes. Au niveau des plages de raréfaction myélinique, les cellules névrogliques sont pour la plupart à l'état de clasmatodendrose, ce qui indique un début de réaction régressive gliale. A la périphérie des foyers désintégratifs plus anciens, on note un certain degré de prolifération microgliale.

PÉDONCULES CÉRÉBRAUX. — Il s'agit de lésions constantes, mais variables comme intensité et comme siège selon les cas examinés. Ces lésions de nature inflammatoire intéressent les méninges, les vaisseaux, les septa conjonctifs et le tissu nerveux lui-même. Un processus méningitique marqué est surtout constaté au niveau du sillon interpédonculaire, mais parfois il se retrouve avec la même intensité au niveau des tubercules quadrijumeaux. L'infiltration méningée est constituée non seulement de lymphocytes et de cellules plasmatiques, mais aussi par des éléments du type polyblastique. Les septa conjonctifs et les vaisseaux se dirigeant surtout vers les noyaux de la III^e paire, et spécialement vers la substance noire, présentent d'importants manchons lymphocyto-plasmatiques. Dans la substance noire, dans certains de nos cas, on trouve des altérations intenses et variées. Dans d'autres cas, les lésions nigériennes sont légères, mais, en échange, on voit des processus infiltratifs marqués dans les tubercules quadrijumeaux et dans la substance grise située autour de l'aqueduc de Sylvius. Le locus niger présente des lésions complexes. Tout d'abord, signalons un certain degré de raréfaction du parenchyme nerveux dû à un processus désintégratif des fibres myéliniques. Les altérations des vaisseaux sont réparties, non seulement sur les veines et les artérioles, mais aussi sur les ramifications les plus fines. Les vaisseaux plus gros offrent des manchons constitués surtout par des lymphocytes, tandis que les précapillaires, et même les capillaires, ont, attachées à leur paroi, des cellules plasmatiques (fig. 9). Le champ nous apparaît de la sorte parsemé de nombreuses cellules plasmatiques ; en même temps, nous trou-

vons une prolifération marquée des cellules satellites péri-neuronales. Cette multiplication périneuronale paraît avoir une étroite relation avec l'altération des cellules nigériennes. Comme la figure 9 nous le montre, quelques-unes de ces dernières ont des lésions progressives aboutissant à leur transformation en ombres cellulaires envahies ensuite par des phagocytes. Des figures neuronophagiques furent trouvées par nous, non seulement dans le locus niger, mais aussi dans le noyau rouge, où d'ailleurs les lésions infiltratives et dégénératives sont beaucoup moins marquées. Dans les tubercules quadrijumeaux, on rencontre parfois des foyers lâches constitués par un véritable syncytium, surtout macroglial, à caractère réparateur, cicatriciel, démontrant une certaine ancienneté de la lésion. Cependant, même dans ces foyers, on trouve des veinules et des précapillaires avec des manchons plasmatiques, ce qui dénote aussi l'existence de phénomènes inflammatoires actifs.

Dans la substance blanche des pédoncules cérébraux, la raréfaction myélinique, assez manifeste, est analogue à celle trouvée au niveau de la moelle.

Par conséquent, la région pédonculaire présente, semble-t-il, un certain degré d'affinité pour la localisation du processus inflammatoire. Ce phénomène est peut-être en relation avec la topographie de cette région, située au voisinage de la porte d'entrée du virus, représentée probablement par le rhinopharynx, comme pour la plupart des infections neurotropes. Peut-être la même relation topographique nous explique la répartition des lésions au niveau du cerveau.

CERVEAU. — Sur des coupes myéliniques, on trouve un processus de raréfaction dans la substance blanche, analogue à celui décrit au niveau de la moelle (fig. 9 *bis*). Ce processus atteint le développement maximum dans la bandelette optique et le pied du pédoncule où il existe un état grillagé traduisant une démyélinisation avancée. Dans le reste de la substance blanche, c'est-à-dire dans la capsule interne et le centre ovale, on note également des altérations des fibres nerveuses, mais l'état spongieux est moins marqué. Des altérations particulièrement intenses se trouvent aussi au niveau du corps

calleux (fig. 10). Le processus de raréfaction myélinique diminue au niveau de l'axe blanc des circonvolutions, de sorte qu'au voisinage du cortex gris l'aspect est presque normal. L'image se rapproche un peu de ce qu'on voit dans la dégénérescence centro-lobaire de la maladie de Schilder-Foix, chez l'homme. Dans d'autres cas, il est vrai, nous n'avons pas trouvé les mêmes altérations de la substance blanche où l'état grillagé était à peine marqué. Une lésion désintégrative assez constante fut notée par nous au niveau de l'hippocampe; elle intéressait non seulement la substance blanche, mais aussi les méninges et les couches cellulaires.

Les coupes colorées par la thionine ou le Giemsa nous ont permis d'étudier le processus inflammatoire et les lésions cellulaires du cerveau. Les méninges sont en général peu touchées. Elles ne présentent qu'une légère hyperplasie des lamelles conjonctives, avec des infiltrations cellulaires discrètes au niveau de la face externe et de la convexité du cerveau. A ce niveau, il n'existe presque pas de lésions inflammatoires du cortex gris. Au contraire, à la base du cerveau et surtout dans la région infundibulo-bandelette et au niveau de l'hippocampe, les méninges présentent non seulement une hyperplasie marquée des lamelles conjonctives, mais aussi un processus d'infiltration plasmatique et lymphocytaire. Ces lésions méningées nous paraissent en étroite relation avec le processus vasculo-infiltratif intense qu'on constate dans le parenchyme nerveux sous-jacent. Dans certains cas, nous avons trouvé, en effet, dans l'hippocampe (fig. 11) une abondante prolifération vasculaire avec des manchons leucocytaires considérables. Des méninges épaissies et infiltrées, partent des vaisseaux et des travées conjonctives avec des amas lymphocyto-plasmatiques. C'est l'élément plasmatique qui prédomine, comme partout d'ailleurs, dans la distribution de cette inflammation, autour des capillaires tortueux. Dans ces foyers, on note une intense réaction macro- et microgliale, qui se poursuit tout en diminuant au delà du champ atteint par le processus vasculo-inflammatoire. Les lésions infiltratives de l'hippocampe s'arrêtent dans certains cas au niveau du striatum, mais elles peuvent envahir aussi l'axe de substance blanche des circonvolutions de l'hippocampe où elles provoquent une démyélinisation massive.

Dans d'autres cas, le processus inflammatoire est moins marqué au niveau de l'hippocampe, mais il prédomine dans la région du *tuber cinereum*, dans la bandelette optique (fig. 12), dans le pied du pédoncule et, de là, il s'étend dans toute la substance blanche du cerveau et atteint une grande intensité au niveau du corps calleux (fig. 13). Il y a un parallélisme frappant entre l'intensité et le siège des lésions désintégratives myéliniques et l'intensité et la répartition du processus inflammatoire vasculaire ; ce qui nous prouve qu'il doit y avoir une relation intime, de cause à effet, entre ces deux phénomènes. Ainsi, dans la capsule interne et le centre ovale, les vaisseaux ont des réactions infiltratives moins marquées que dans la bandelette optique, le pied du pédoncule et le corps calleux. Au contraire, au niveau de l'axe blanc des circonvolutions, les processus infiltratifs sont très distincts, comme d'ailleurs aussi les altérations myéliniques.

Dans le cortex cérébral, en général, sauf les régions signalées à la base du cerveau, on ne trouve presque pas de processus infiltratifs périvasculaires. Signalons, au niveau de la région tubérienne, des processus infiltratifs périvasculaires, particulièrement intenses dans certains cas. On trouve des manchons lymphocyto-plasmatiques périvasculaires dans les noyaux tubériens et même dans toute la paroi du troisième ventricule, des deux côtés. Le thalamus, le striatum sont, en général, très peu touchés. Dans les plexus choroïdes, nous avons toujours trouvé des amas de cellules plasmatiques autour des vaisseaux et surtout dans le tissu conjonctif interstitiel.

LÉSIONS CELLULAIRES DU CORTÈX CÉRÉBRAL. — Cerletti a insisté sur la présence d'incrustations basophiles au niveau de la membrane cellulaire. En même temps, il a insisté sur l'importance du fait que les lésions du cortex gris frontal sont la cause des troubles psychiques qu'on constate souvent chez les animaux et qui se traduisent par une sorte de paralysie générale. Dans les cas examinés par nous, nous avons également noté des lésions cellulaires au niveau du cerveau, mais celles-ci présentaient une étroite relation avec la distribution des processus infiltratifs. En général, le cortex, et surtout la convexité du cerveau, n'ayant que de rares inflammations vasculaires, ne présentaient que de légères altérations (chromatophilie, épaissis-

sement des prolongements dendritiques ou de la membrane nucléaire, discrète hyperplasie gliale, etc.). Au contraire, là où le manteau gris était le siège de processus inflammatoires marqués, comme dans l'hippocampe, les lésions cellulaires étaient considérables. En effet, on trouve tous les aspects, depuis la pulvérisation des corpuscules de Nissl jusqu'à la dégénérescence alvéolaire du protoplasma ou la transformation en vraie ombre cellulaire avec début de phagocytose. A ce niveau, il y a aussi une prolifération marquée de l'élément glial, tant de la macroglie que de la cellule de Hortega. Dans les champs de substance blanche, sans désintégration lacunaire, mais avec processus vasculo-infiltratifs, on trouve une abondante prolifération de la névroglie astrocytaire et de la microglie. On voit un épais feutrage de fibrilles névrogliales; dans leurs mailles et surtout autour des manchons périvasculaires, il existe une multiplication microgliale manifeste, avec parfois des amas plus ou moins compacts, voire même des nodules. Des réactions progressives se trouvent aussi dans le cortex gris envahi et présentant des processus interstitiels périvasculaires. La prolifération macrogliale et microgliale atteint son plus haut degré dans le voisinage des méninges très infiltrées. Au niveau des champs lacunaires discrets, on ne trouve que rarement des corps granuleux *in situ* (par transformation microgliale) ou périvasculaire; ce qui dénote que le processus dégénératif est de date récente. Dans les champs ayant un état grillagé marqué, on voit de nombreux corps granuleux *in situ* et une abondante réaction astrocytaire.

Par conséquent, les lésions de la substance blanche du cerveau sont beaucoup moins intenses et moins anciennes que celles décrites dans la substance blanche du cervelet. Des processus prolifératifs microgliaux ayant un caractère interstitiel s'observent aussi dans la paroi du 3^e ventricule et surtout au voisinage du pilier du trigone.

LÉSIONS VISCÉRALES. — Nous avons pu constater des lésions, en général légères, de certains viscères, importantes au niveau de l'intestin. Dans l'axe conjonctif des villosités de l'intestin grêle, il y a une infiltration considérable constituée presque exclusivement par des cellules plasmatiques autour des vais-

seaux, et interstitielle, spécialement vers le sommet des villosités et immédiatement sous la couche endothéliale. Vers la profondeur, le processus inflammatoire se continue dans le chorion où il diminue progressivement. Les éléments réticulo-endothéliaux sont proliférés et en dégénérescence graisseuse. Légère infiltration dans le myocarde. Dans les reins, infiltrations interstitielles à cellules plasmatiques (peut-être en relation avec l'élimination du virus par la voie rénale). Nous n'insistons pas sur les lésions du poumon : la broncho-pneumonie massive que nous avons trouvée fréquemment est fort probablement due aux associations microbiennes.

LES INCLUSIONS DANS LA MALADIE DE CARRÉ.

Standfuss avait observé dans certains cas de cette maladie que les lésions produites ne pouvaient pas être facilement distinguées de celles de la rage, d'autant moins qu'il trouvait des inclusions cellulaires semblables aux corpuscules de Negri. Mais Lentz a constaté que dans la maladie des jeunes chiens les inclusions se distinguaient des corpuscules de Negri par leur tendance à se déplacer en dehors de la cellule et leur présence même dans les cellules très dégénérées. Il décrit ces corpuscules, libres, colorés en rouge dans les lacunes des tissus, dans les restes de protoplasma et même à l'intérieur du noyau. Ces corpuscules, dit Lentz, présentent une forme ronde ou ovale ayant des dimensions variant depuis les plus minimes jusqu'à celles d'un globule rouge. Ils sont distribués dans le cortex du cerveau, la protubérance, le cervelet, la moelle. Pour la raison que cet auteur les a trouvés seulement dans la forme nerveuse de cette maladie, il les a dénommés : « Staupen körperchen ». Il explique leur formation par l'influence du virus qui attaque les substances plastiques du protoplasma ; la chromatine qui reste s'accumule en masses qui constituent ainsi les inclusions cellulaires. Babès et Staico-vici les ont trouvés dans les diverses parties du système nerveux et surtout dans la corne d'Ammon.

Sinaglia a trouvé les mêmes inclusions dans les cellules épithéliales des bronches moyennes et petites. D'après cet auteur, les inclusions offrent une toute autre structure inté-

rieure que les corpuscules de Negri et des dimensions variant entre 1 et 5 microns. Dans les cellules nerveuses, elles siègent auprès des nucléoles, souvent en dessus et en dessous. Ce qui apparaît caractéristique à cet auteur c'est que ces corpuscules forment une masse compacte à la périphérie ayant un aspect vacuolaire au centre. Sinigaglia les rencontre aussi dans les cellules épendymaires où elles ont des dimensions très petites. Il les trouve seulement dans la forme nerveuse de la maladie et dans les cas à évolution prolongée. Pour Sinigaglia, les corpuscules décrits par Lentz représentent un produit de dégénérescence de la cellule. Quant à ceux qu'il a observés lui-même, il était porté à croire qu'il s'agissait de véritables parasites appartenant aux protozoaires. Il admet une forme invisible, filtrable de l'agent causal et une autre forme visible représentée par ces corpuscules, localisés dans les cellules nerveuses et correspondant à une autre période du cycle évolutif du parasite. Il les différencie des corpuscules de Negri par leur affinité pour les cellules épendymaires. D'après Manouélian et Viala, la maladie de Carré, ainsi que la rage, sont produites par un *Encephalitozoon*. Les corpuscules de la maladie de Carré se distinguent de ceux de la rage par le fait qu'ils ont 1 à 2 microns de diamètre et même moins, qu'ils sont filtrables, qu'ils sont extracellulaires et, en outre, plus nombreux dans les circonvolutions cérébrales que dans la corne d'Ammon. Quelquefois, ils se trouvent même dans les glandes salivaires. Ces auteurs ont proposé le nom d'*Encephalitozoon negri* pour désigner l'agent pathogène de cette maladie.

Sanfelice décrit ces corpuscules dans l'épithélium des bronches comme étant homogènes et sans structure, et d'autres, vacuolaires, dans le système nerveux central. Il explique les inclusions comme étant une réaction des cellules contre l'action du virus. Il n'admet pas leur nature protozoaire, mais pense qu'il s'agit de produits protoplasmiques ou nucléaires.

D'après Benjamin, leur origine parasitaire est exclue, car ils résultent de la destruction du nucléole, ou bien, il s'agit d'un nucléole qui a émigré du noyau dans le protoplasma.

Bendorf trouve ces inclusions dans 6 cas nerveux graves et ne les trouve pas dans les formes légères, pas davantage chez les chiens normaux.

Nous avons examiné le système nerveux central dans les cas de maladie de Carré étudiée plus haut, ayant une durée de sept à vingt jours. Voici nos résultats :

Comme siège, nous avons trouvé des inclusions dans les cellules nerveuses et les cellules névrogliales avec localisation dans les noyaux et très rarement dans le protoplasma. Par rapport au nucléole de la cellule, les inclusions se trouvent sur des plans variés, pouvant se déplacer parfois jusqu'à la périphérie du noyau. Presque toujours elles sont entourées d'un halo incolore. Quand elles se disposent près du nucléole elles font l'impression d'un nucléole acidophile, tel que nous l'avons trouvé à l'état normal chez les souris blanches. Remarquons cependant que chez ces animaux on ne constate pas de halo environnant ce nucléole acidophile. Chez le chien normal, nous n'avons jamais rencontré de telles formations intranucléaires. Les cellules nerveuses ou névrogliales contenant les inclusions dans la maladie de Carré ne présentent pas d'altérations dégénératives.

Comme distribution topographique, dans la plupart des cas, les cellules contenant des inclusions sont plus nombreuses dans la moelle, où, sur une section, nous avons pu en compter jusqu'à 20 présentant des corpuscules. Les cellules situées à la périphérie de la substance grise, les cellules nerveuses et petites, situées dans la corne postérieure, les cellules névrogliales étaient le plus fréquemment le siège de ces inclusions. Leur nombre diminue au niveau de la protubérance, du cervelet et du cerveau. Dans celui-ci, nous les avons trouvées dans l'écorce de la convexité tout aussi rares que dans la corne d'Ammon où il existait cependant des lésions infiltratives périvasculaires. Dans les couches optiques, il y avait surtout des inclusions intraprotoplasmiques.

Une cellule nerveuse ou névrogliale contenait en général un seul corpuscule, plus rarement deux ou trois. Leurs dimensions varient entre 3-4 microns et même moins; de forme arrondie, les corpuscules peuvent parfois présenter une forme ovale. Par la méthode de Lentz, les petits corpuscules montrent une structure homogène tandis que ceux de dimensions plus grandes offrent une zone homogène périphérique et une vacuole centrale. Les corpuscules plus grands ont parfois une

structure plus complexe, c'est-à-dire constituée par un amas de vacuoles rondes rappelant l'aspect mûriforme des corpuscules de Negri, mais sans présenter d'*Innenkörper*.

Comme méthode de coloration, nous avons employé celle de Lentz qui colore les corpuscules en rouge intense avec les particularités décrites plus haut si l'on utilise des fixateurs acides (le liquide de Hollande, sublimé acétique, etc.). Par des fixateurs neutres et avec la même méthode de coloration, l'intensité de couleur du corpuscule est moindre; par la méthode d'Alzheimer, les corpuscules et le nucléole se colorent en rouge, ce qui constitue une difficulté pour les différencier. Par cette dernière méthode, nous avons constaté que les granulations fuchsinophiles sont en grand nombre. Par la thionine, les corpuscules prennent une teinte métachromatique; la méthode de Feulgen et celle de Macalum ne montrent pas la présence de chromatine dans les corpuscules, ce qui exclut l'hypothèse de Sinigaglia, Manouélian et Viala qui ont considéré ces inclusions comme la forme visible pansporoblastique du virus. Les corpuscules zostériens intranucléaires ne présentent pas non plus les réactions de la chromatine.

Les inclusions cellulaires de la maladie des jeunes chiens, par les caractères décrits, rentrent dans le même groupe que les autres inclusions constatées dans les maladies à ultra-virus. Nous n'allons pas discuter ici la nature et la genèse des inclusions en général, l'ayant déjà fait dans un travail et des communications antérieurs. En tout cas, nous n'avons pas de preuves pour affirmer que les inclusions cellulaires représentent une phase pansporoblastique du virus, ainsi que Sinigaglia, Manouélian et Viala et ses collaborateurs. Et cela d'autant plus que les corpuscules intracellulaires de ces infections n'offrent pas les réactions des chromatines nucléaires, comme nous l'avons vu dans les noyaux des protozoaires (*Encephalitozoon cuniculi*, *Klossiella muris*, l'hématozoaire de Laveran, etc.).

En même temps, nous ne croyons pas que les inclusions nucléaires soient des produits non spécifiques de dégénérescence du nucléoplasme comme paraissent l'admettre Abner Wolff et Samuel Orton.

En ce qui concerne les inclusions de la maladie des jeunes

chiens spécialement, il est fort probable qu'elles sont dues à l'action du virus puisqu'elles ne se rencontrent pas chez les chiens normaux.

Par la présence de ces corpuscules intranucléaires, non seulement dans les cellules nerveuses, mais aussi dans les cellules névrogliques, ces formations ont une particularité qui ne se rencontre pas dans les autres infections neurotropes. Par leur localisation, surtout intranucléaire (ce qui dénote que le virus est karyotrope et en moindre mesure cytotrope) elles se rapprochent de celles trouvées dans l'encéphalo-myélite du cheval (maladie de Borna). Dans l'herpès, les inclusions sont intraprotoplasmiques et intranucléaires. Dans le looping, nous les avons trouvées dans le protoplasma et rarement dans le noyau. Dans la rage, les corpuscules de Negri ont un siège cytoplasmique. Ces derniers se différencient des autres inclusions par le fait qu'ils présentent des « Innenkörper ». Les formations intranucléaires ou intraprotoplasmiques des autres maladies neurotropes peuvent cependant parfois avoir une structure mûriforme, voisine de celle des corpuscules de Negri, sans qu'on puisse déceler d'Innenkörper à leur intérieur.

En résumé, le tableau histo-pathologique de la maladie des jeunes chiens, par la diffusion des processus lésionnels se présente comme une leuco-polio-névraxite, c'est-à-dire intéressant à la fois la substance blanche et la substance grise du système nerveux central. Les lésions sont de nature inflammatoire et dégénérative. Le processus primitif est de nature inflammatoire périvasculaire; il est constitué par des manchons lymphocytoplasmatiques. Tous les vaisseaux sont intéressés, depuis ceux d'un calibre plus gros, où prédominent les lymphocytes, jusqu'aux capillaires, où prédominent les cellules plasmatiques. Le processus de péricapillarite est très net, il donne l'impression d'une véritable infiltration interstitielle. L'inflammation est localisée au niveau des méninges dans la substance blanche et grise et autour de l'épendyme. Dans la moelle, le processus vasculo-infiltratif paraît se propager de la périphérie vers l'épendyme, aboutissant à une infiltration diffuse. Au niveau du bulbe et de la protubérance, il est situé surtout dans les zones marginales. Dans le cervelet, il atteint avec une

grande intensité les deux substances. Au niveau des pédoncules cérébraux, l'inflammation est diffuse, néanmoins la partie centrale est mieux conservée. Une certaine prédilection de ce processus inflammatoire infiltratif paraît exister pour la zone des cellules nigériennes. Dans le cerveau, le processus inflammatoire intense se localise au niveau de la face intérieure (hippocampe, région tubérienne, bandelette optique, etc.) respectant la convexité. En profondeur, il offre une affinité presque exclusive pour la substance blanche (centre ovale, corps calleux, capsule interne, etc.) laissant presque intacte la substance grise, à l'exception de l'hippocampe, de la corne d'Ammon parfois, et de la paroi du 3^e ventricule qui sont fréquemment ou presque constamment très touchés.

Dans la substance blanche, soit qu'il s'agisse de la moelle ou du reste du névraxe, on trouve un processus désintégratif de la myéline, état lacunaire allant jusqu'à une véritable destruction myélinique partout où il existe aussi un processus vasculo-infiltratif. Celui-ci guide même l'intensité du premier. Nous trouvons de la sorte un état criblé (Lückenfeld) dans les cordons médullaires, dans la substance blanche du cervelet (on note constamment une lésion désintégrative très avancée et importante), dans le pied du pédoncule et la bandelette optique, la capsule interne du centre ovale, le corps calleux. Au niveau du cerveau et du cervelet, la zone de substance blanche avoisinant les couches cellulaires est en général conservée, ce qui s'explique par l'absence de lésions inflammatoires.

La localisation presque constante, cérébrale, du processus inflammatoire dans la maladie de Carré, au niveau de la base (hippocampe, région infundibulaire, bandelette optique, etc.) paraît avoir une certaine relation avec la porte d'entrée du virus : le rhino-pharynx, qui est fort probable dans certains cas tout au moins. Ultérieurement, le liquide céphalo-rachidien, qui est virulent, joue certainement un rôle dans la diffusion du virus vers les parties sous-jacentes du névraxe. Mais, dans cette encéphalo-myélite, on reconnaît que le virus est venu par la voie sanguine (car par l'inoculation du sang on a pu reproduire la maladie) et, peut-être, ce fait nous explique les lésions progressives des vaisseaux que nous avons cons-

tâtées fréquemment, et même les altérations intestitielles dans certains viscères. Cette double voie d'infection peut être, dans une certaine mesure, la cause de l'extension des lésions, tant dans la substance blanche que dans la substance grise, avec cependant une certaine électivité pour la substance blanche du cerveau et spécialement du cervelet. L'encéphalo-myélite de la maladie des jeunes chiens représente, à ce point de vue, une leuco-polionévrite, s'intercalant entre les affections à localisation prédominante sur la substance grise; comme la poliomyélite, la rage, etc., et les leuco-névrites. Par le caractère périvasculaire de la désintégration myélinique, cette maladie se rapproche plutôt des encéphalo-myélites post-éruptives et post-vaccinales.

BIBLIOGRAPHIE

- BABES et STAIKOVICI. Sur les corpuscules particuliers trouvés dans la maladie des chiens. *C. R. Soc. Biol.*, 1912, p. 229.
- STANDFUSS. Ueber die ätiologische und diagnostische Bedeutung der Negrischer Tollwutkörperchen. *Arch. f. Wundkr. Tierheilk.*, 39, 1908.
- BENJAMIN (Moritz). Beitrag zur Nachweis der bei der Staupe der Hunde vorkommenden Einschlusskörperchen. *Inaug. Dissert.*, Giessen, 1922.
- BOHNDORF. Zur Spezifität der Staupekranken Hunde vorkommenden Staupekörperchen in Gehirn und Rückenmark. *Dissert.*, Berlin, 1914.
- CARRÉ (H.). Maladie des chiens (Étiologie et Vaccination). Eleventh international veterinary Congress.
- CARRÉ (H.). Recherches expérimentales sur une ectodermose neurotrope du chien : la maladie des chiens. *Rev. gén. de Méd. vét.*, n° 418, 1926.
- CHIRILA (A.). Cercetari experimentale asupra jigodiei la pisica. *Thèse de Bucarest*, 1930.
- CERLETTI. Ueber verschiedene Encephalitis und Myelitis bei an der Staupe erkrankten Hunden. *Zeitschr. f. die ges. Neur. und Psych.*, 9, 1912.
- DRAGANESCU (St.). Infectiunile neurotrope in lumina cunostintelor actuale. *Miscarea Med.*, nos 5-6, 1931.
- LENTZ. Ueber die spezifischen Veränderungen an den Ganglienzellen Wut und Staupekrankentiere. *Zeitschr. f. Hyg.*, 62, 1909.
- MARINESCO (G.) et STROESCO (G.). Recherches sur la rage. *Arch. roum. de Bact. et de Microb.*, septembre 1931.
- SCHRÖDER. Hundestaupe des Hundes und ihre Behandlung, 1925.
- SCHRÖDER. Cinq années de recherches sur la maladie des chiens. *Rev. de Méd. vétérinaire*, 1930.
- MANOUÉLIAN et VIALA. Encephalitozoon Negrü, parasite de l'encéphalo-myélite des jeunes chiens. *C. R. de l'Académie des Sciences*, 184, 1927, p. 630.
- SANFELICE. Ueber die bei der Staupe vorkommenden Einschlusskörperchen. *Zentr. f. Bakt.*, 1915, p. 495.
- SINIGAGLIA. Osservazioni sul cimurro. *Patologica*, 9, 1914.

- STROESCU (J. Ch.). Studiu istopatologic si patogenice in boalele cu virus neurotrop. *Thèse de Bucarest*, 1932.
- ROMAN et LAPP. Altérations anatomiques dans la maladie des chiens. *Journ. of the Americ. Veterinary med. Assoc.*, février 1925.
- WOLF (A.) et ORTAN (T. S.). The occurrence of intranuclear Inclusions in Human Nerve cells in a variety of diseases. *Bull. of. Neur. Inst. of New-York*, 11, juillet 1932.
- GERLACH (Paul) et SCHWEINBURG. *Der Wut.*
- VECHIU (A.). Recherches expérimentales sur la forme nerveuse aiguë et chronique de la maladie de Carré (maladie du jeune âge des chiens). *Archives vétérinaires Bucarest.*
- ROBIN et VECHIU. La virulence du liquide céphalo-rachidien dans la maladie du jeune âge du chien. *C. R. Soc. de Biologie*, 94, 1926, p. 1351.

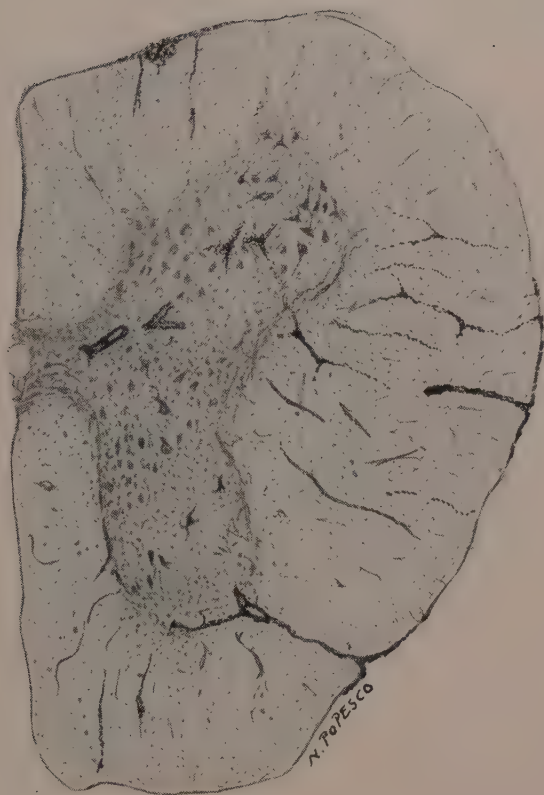


FIG. 1. — Moelle lombaire. Infiltrations périvasculaires dans la substance blanche et grise.

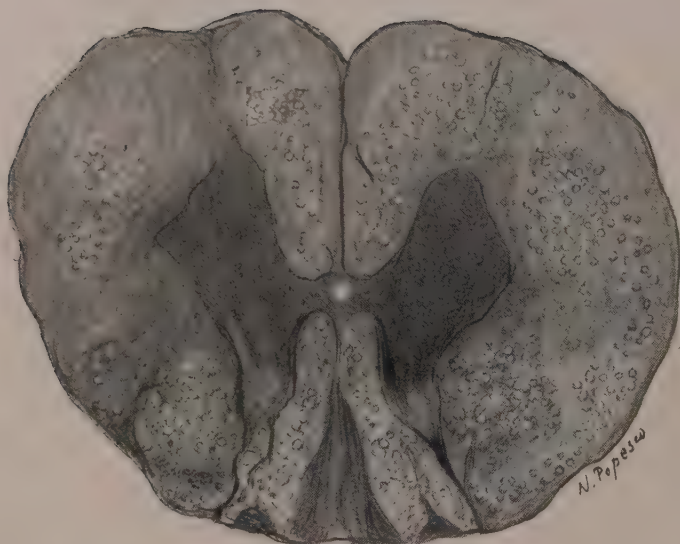


FIG. 2. — Moelle dorsale inférieure présentant de nombreux champs de désintégration myélinique ayant l'aspect typique des « *Lückenfelder* ».

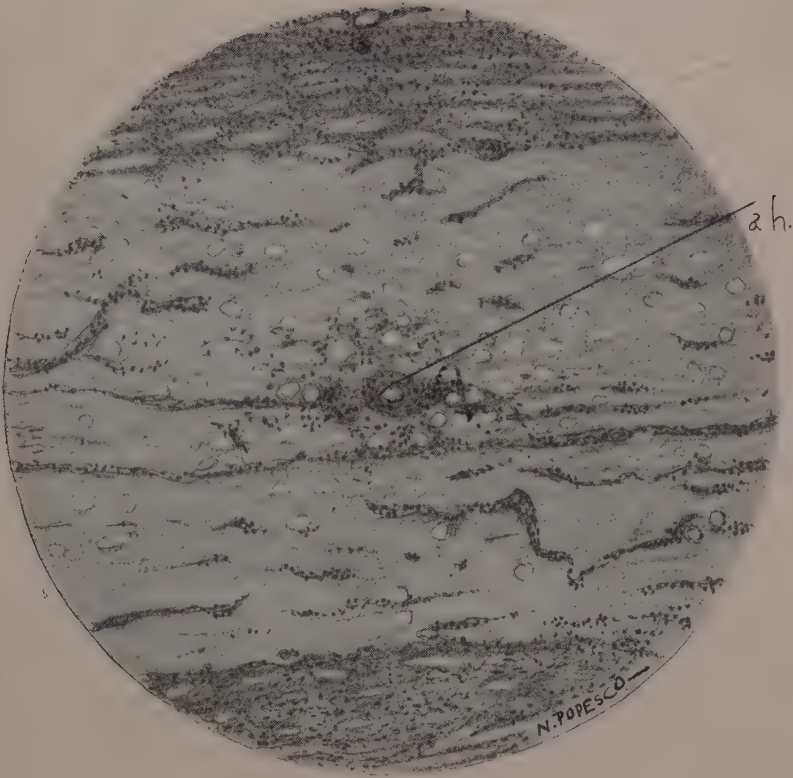


FIG. 3. — Moelle dorsale inférieure. Le cordon postérieur présente une infiltration périvasculaire avec état criblé parenchymateux autour d'une artériole hyalinisée (a. h.).

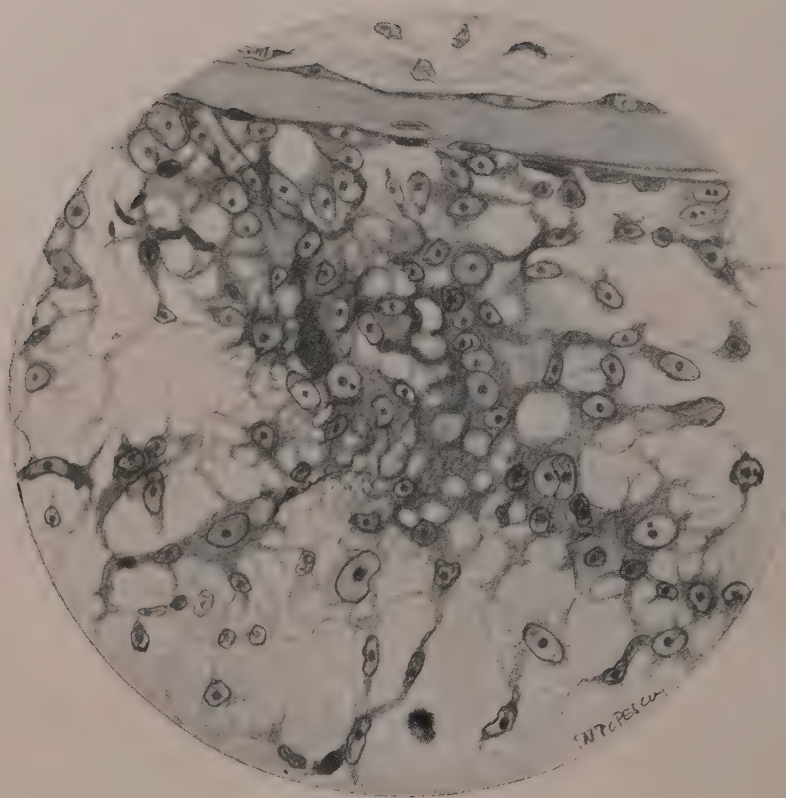


FIG. 4. — Nodule glial de la substance blanche de la moelle.



FIG. 5. — Moelle épinière, substance grise péri-épendymaire ;
c. ep, cavité épendymaire ; *i. f*, infiltration périvasculaire.

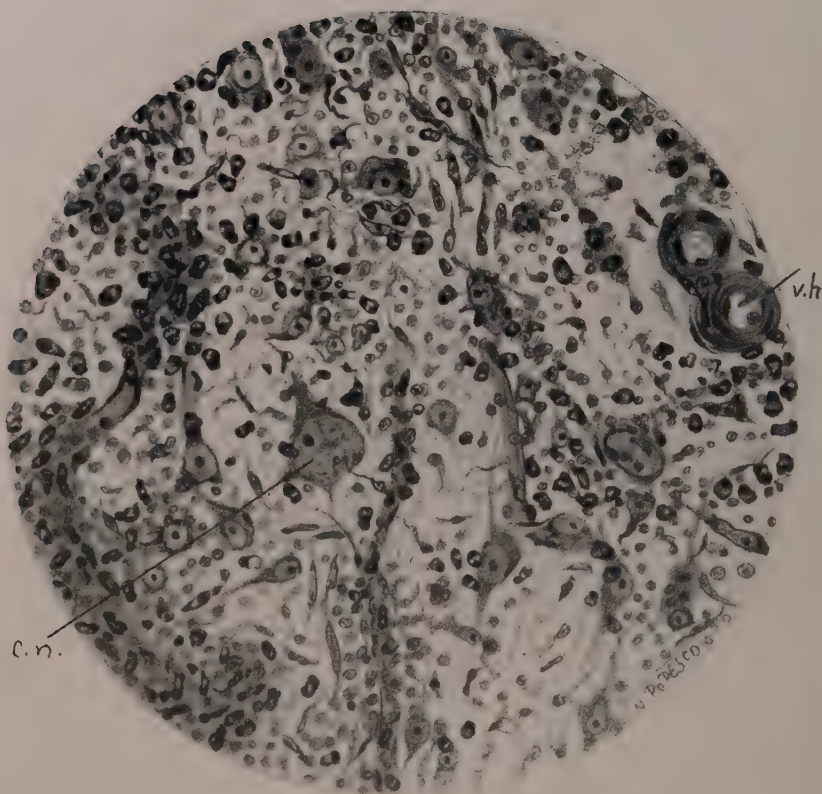


FIG. 6. — Corne postérieure de la moelle épinière cervicale montrant des vaisseaux hyperplasiés et hyalinisés (*v. h.*), des lésions des cellules nerveuses (*c. n.*), une infiltration plasmocytaire interstitielle et péri-capillaire, avec réaction microgliale progressive.

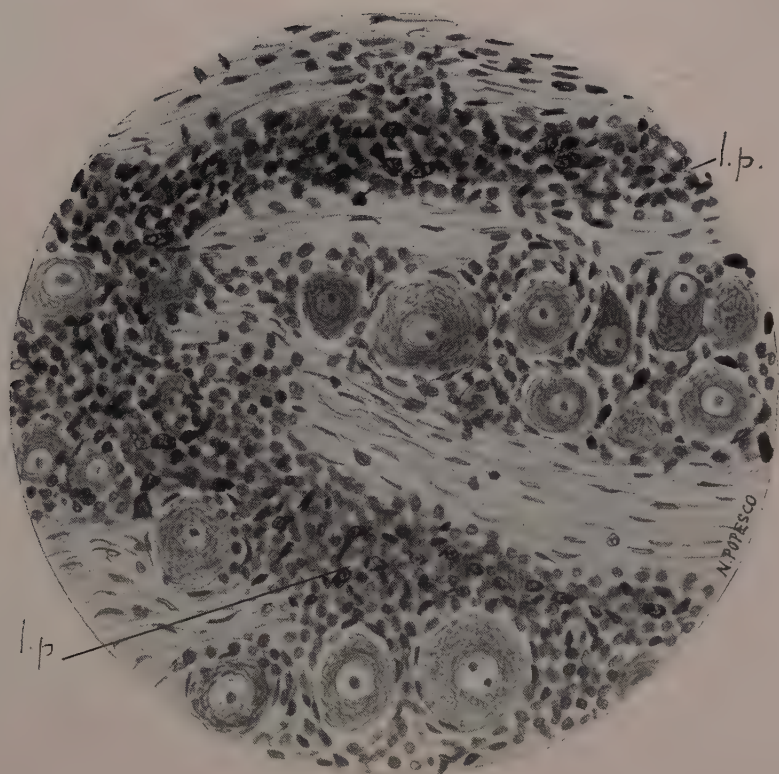


FIG. 7. — Ganglion spinal dorsal montrant une prolifération des cellules satellites avec intense infiltration interstitielle lymphocyto-plasmatique (*l. p.*).

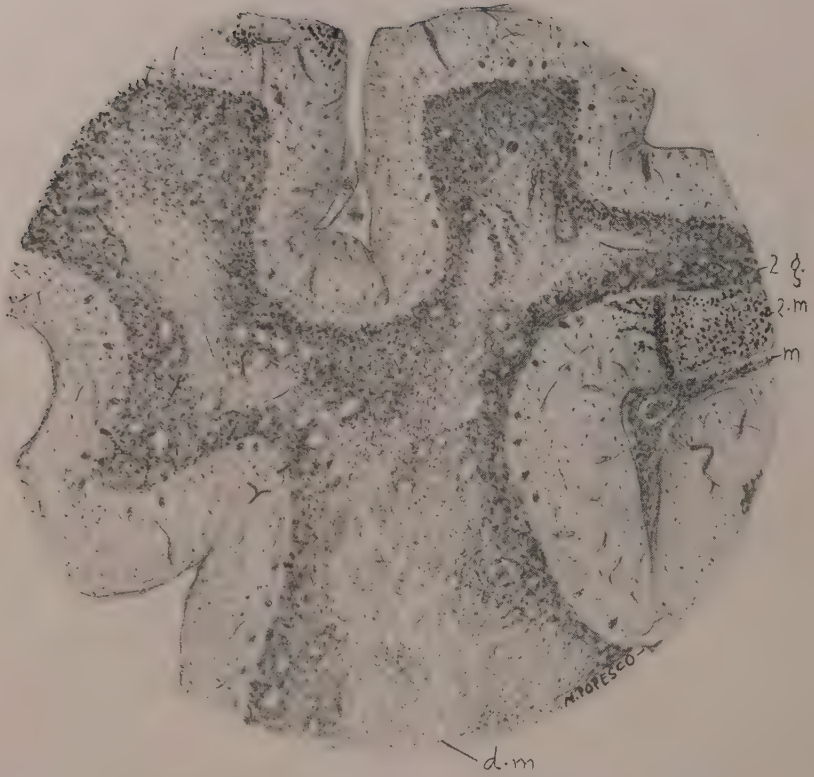


FIG. 8. — Cervelet. Désintégration myélinique marquée (*d. m.*) dans la substance blanche, méningite considérable (*m*) et infiltration interstitielle dans la zone moléculaire (*z. m.*) et dans la zone granulaire (*z. g.*), avec une abondante réaction microgliale.

Disparition d'un grand nombre de cellules de Purkinje.

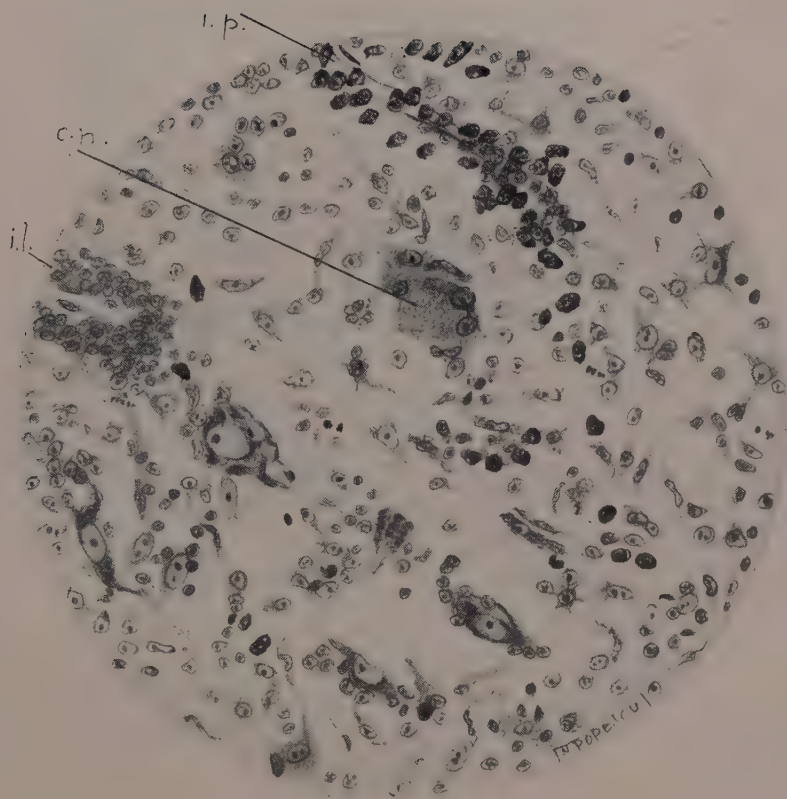


FIG. 9. — Pédoncule cérébral, locus niger. Infiltration lymphocytaire péri-vasculaire (*i. l.*), infiltration par des plasmocytes autour des capillaires (*i. p.*).
c. n., cellule nerveuse profondément altérée et envahie par des neurophages.



FIG. 9 bis. — Coupe vertico-transversale au niveau de la région tubérienne. On voit une désintégration myélinique avec état lacunaire dans la substance blanche. La zone avoisinant le manteau gris cortical est en général indemne. L'aspect rappelle un peu celui observé chez l'homme dans la dégénérescence centro-lobaire.

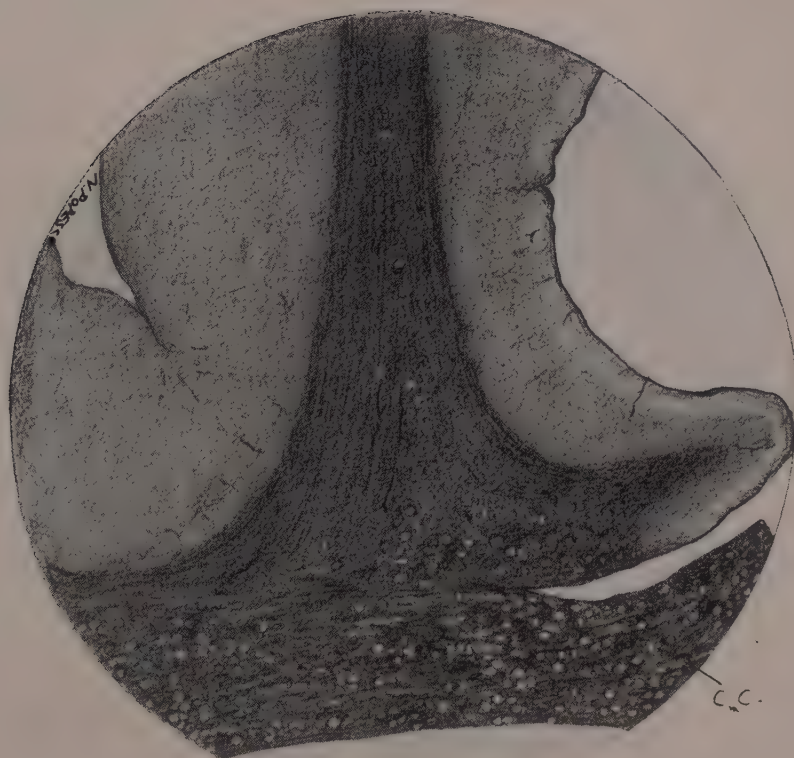


FIG. 10. — Etat criblé (« Lückenfeld ») marqué dans le corps calleux (c. c.) et vers la base de l'axe blanc d'une circonvolution de la convexité.

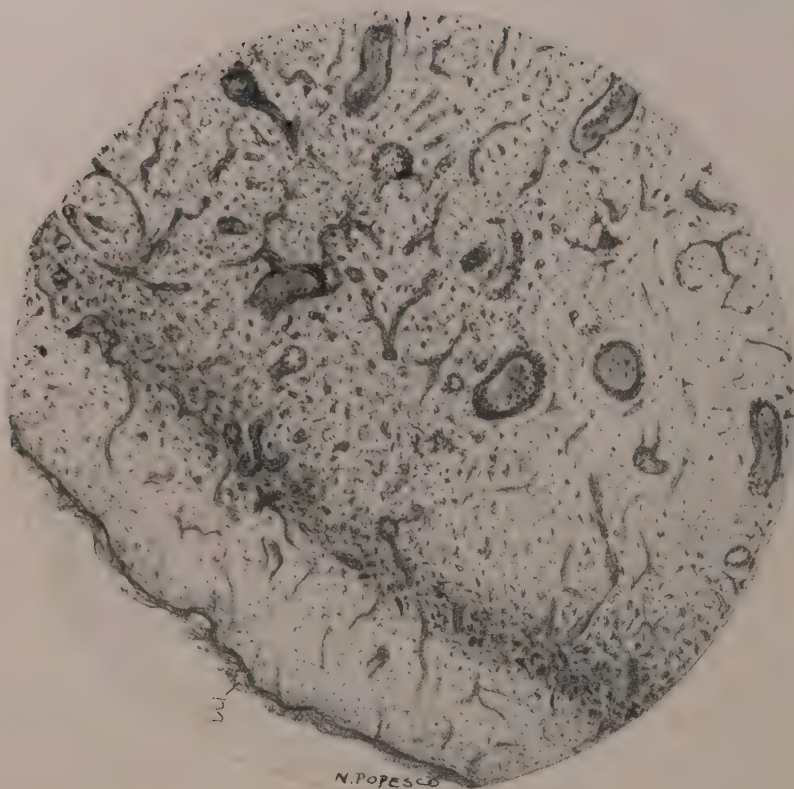


FIG. 41. — Hippocampe. Processus méningitique intense (*m*), avec infiltrations périvasculaires marquées et néoformations des vaisseaux dans le parenchyme.

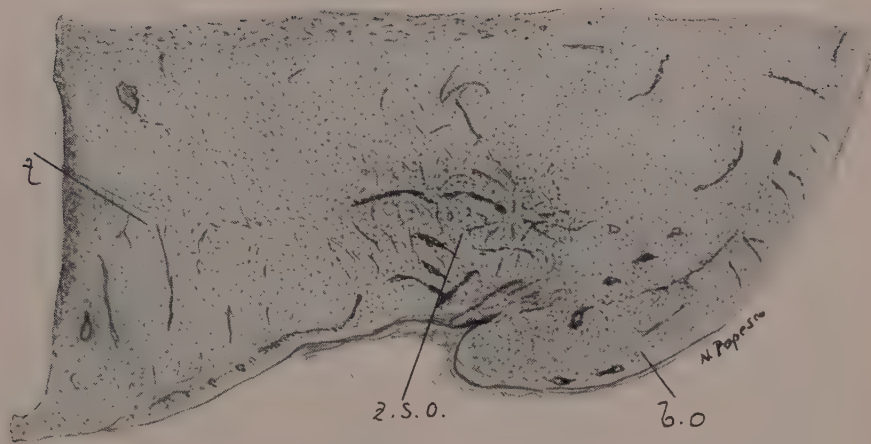


FIG. 12. — Région infundibulo-tubérienne montrant des infiltrations péri-vasculaires abondantes surtout au niveau de la bandelette optique (b. o) et dans la zone sus-optique (z. s. o); t, tuber cinereum.

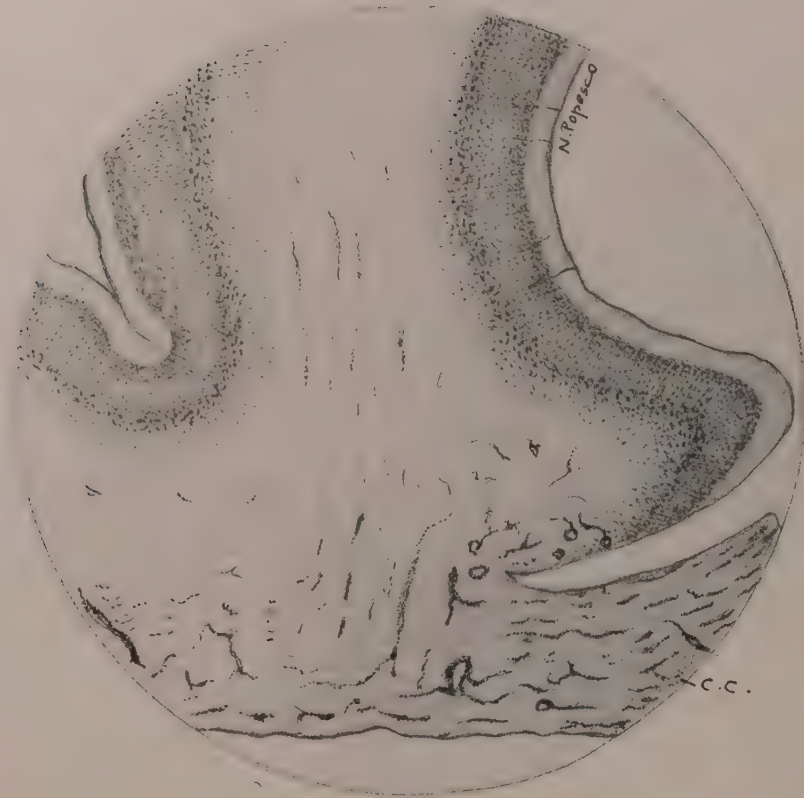


FIG. 13. — Nombreux processus infiltratifs périvasculaires dans le corps cal-
leux (c. c.) et vers la base et au niveau de la partie centrale de l'axe blanc
d'une circonvolution.

Dans les mêmes régions, altérations désintégratives myéliniques.

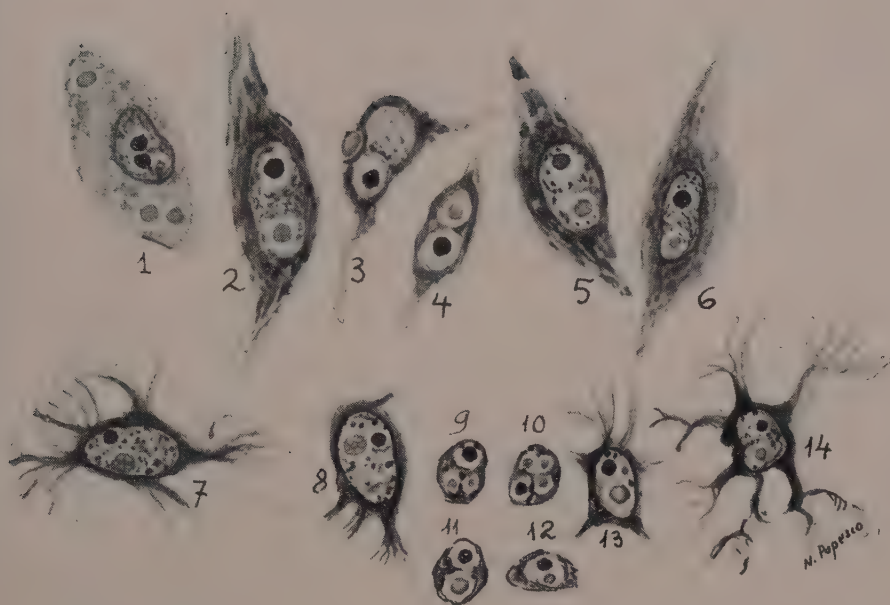


FIG. 14. — Maladie des jeunes chiens. Inclusions cellulaires (méthode de Lenz).

1, cellule nerveuse du putamen; 2, 3, 4, cellules nerveuses de la moelle épinière; 5, 6, cellules de Purkinje (cervelet); 7, 8, 11, 12, 13 et 14, cellules névrogliales de la moelle épinière; 9 et 10, cellules névrogliales du cervelet.



**RECHERCHES SUR LES ANTISEPTIQUES URINAIRES.
LE POUVOIR ANTISEPTIQUE DE L'URINE
APRÈS ADMINISTRATION
DE L'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE (UROTROPINE)
ET SES DÉRIVÉS**

par DANIEL BOVET et LUCIE DEMANCHE.

(Laboratoire de Chimie thérapeutique, Institut Pasteur.)

A notre connaissance, les agents chimiques, dont quelques-uns sont si actifs contre les maladies à protozoaires, n'agissent pas sur les maladies bactériennes. Cela tient, d'une part, aux difficultés qu'ont toujours présentés les essais des antiseptiques au laboratoire. Les recherches sur les agents bactéricides posent en effet, en plus des problèmes généraux communs à tous les domaines de la chimiothérapie, un grand nombre de questions qui leur sont propres et qui rendent singulièrement ardue l'étude de leurs propriétés thérapeutiques. L'on peut citer par exemple : les variations de sensibilité des races microbiennes, leur facile accoutumance et leur résistance acquise aux agents microbicides; les variations de virulence des microbes vis-à-vis de leur hôte, et les localisations diverses qu'ils présentent; l'action directe que les médicaments exercent sur les réactions naturelles de défense de l'organisme, la possibilité d'infections secondaires, etc. Cela tient aussi, sans doute, à ce que l'on tend à utiliser pour les maladies bactériennes des substances voisines de celles qui ont donné les meilleurs résultats dans les maladies à protozoaires et qu'on emploie les mêmes méthodes.

La technique d'essais des antiseptiques urinaires introduite en 1924 par V. Leonard (1), dans ses recherches sur l'hexylrésorcine, nous a semblé rester à l'abri, à la fois des objections que

(1) *J. Amer. Med. Assoc.*, **83**, 1924, p. 2007.

soulève toute technique d'essais *in vitro*, et des difficultés expérimentales excessives que présenterait une technique d'essais entièrement *in vivo*.

V. Leonard ayant montré que l'urine d'un lapin pouvait, à la suite d'administration d'hexylrésorcine, acquérir des propriétés bactéricides et antiseptiques, il pouvait sembler intéressant de savoir s'il était possible de retrouver des propriétés analogues dans d'autres séries chimiques et si la méthode présentait une valeur générale permettant de mesurer la valeur d'un médicament dans l'antiseptie urinaire.

Les expériences ont porté d'abord sur l'hexylrésorcine, puis sur un antiseptique urinaire choisi dans le groupe des matières colorantes, la néotropine (1), enfin sur l'urotropine (hexaméthylène tétramine) et sur quelques-uns de ses dérivés soit nouveaux, soit déjà utilisés en clinique.

Les essais sur l'hexylrésorcine ont seulement permis de retrouver les résultats trouvés par Leonard, montrant que l'urine acquiert régulièrement des propriétés bactéricides après l'administration de ce produit à l'animal.

Trois lapins traités par des doses subtoxiques de néotropine (1 gr. et 1 gr. 5 par kilogramme) ne nous ont, par contre, pas fourni un seul échantillon d'urine bactéricide, dans les conditions d'expériences que nous décrirons dans la suite. Même les échantillons d'urine les plus colorés, d'une teinte rouge foncé,ensemencés avec du staphylocoque doré ou du bacille du côlon, ont fourni par repiquage des cultures normales.

L'urotropine (hexaméthylène tétramine), ayant donné des résultats positifs, a été étudiée plus en détail, et son action comparée à celle de quelques-uns de ses dérivés.

Nous nous proposons de rapporter ici les résultats obtenus dans ce groupe de produits; trois d'entre eux ont été étudiés en détail: l'hexaméthylène tétramine, l'iodométhylate d'hexaméthylène tétramine $C_6H_{12}N_4 \cdot ICH_3$, et l'iodoéthalonate d'hexaméthylène tétramine $C_6H_{12}N_4 \cdot IC_2H_4OH$; d'autres dérivés se sont montrés inactifs comme, par exemple, l'iodoglycérinate d'hexaméthylène tétramine $C_6H_{12}N_4 \cdot IC_3H_7(OH)_3$, trop peu solubles

(1) Néotropine, colorant pyridinique (2-6-diamino-5'-butoxy-3-3'-azobispyridine).

comme l'iodobenzylate d'hexaméthylène tétramine $C^6H^{12}N^4.IC^3H^5$, ou enfin, relativement, plus toxique comme l'iodoéthylate $C^6H^{13}N^4.IC^3H^5$, le chlorobenzylate $C^6H^{12}N^4.ClC^2H^3$ et le bromoéthylate d'hexaméthylène tétramine $C^6H^{12}N^4.BrC^2H^3$ (1). Nous étudierons successivement le pouvoir bactéricide à la suite de l'administration par voie veineuse et par voie buccale de ces produits, les variations de l'action bactéricide *in vitro* en fonction de l'acidité réelle du milieu, la toxicité rénale des médicaments.

I. — TECHNIQUE DES ESSAIS.

Les expériences effectuées suivant la technique décrite présentent une variabilité assez considérable d'un animal à un autre, variabilité qui provient non seulement des différences dans les vitesses de l'excrétion rénale, et, le cas échéant, dans les vitesses d'absorption intestinale, mais qui peut provenir encore de facteurs concomitants, susceptibles de venir troubler les résultats des expériences. Cette variabilité s'est montrée plus accentuée après l'administration par la voie buccale qu'à la suite de l'administration par la voie intraveineuse.

1° La première cause d'erreur provient des cas où l'urine se montre naturellement antiseptique. V. Leonard (1924) avait déjà signalé le fait; nous n'avons observé qu'un seul échantillon d'urine qui présentait cette propriété avant l'administration d'un médicament; encore ne s'est-il montré antiseptique que vis-à-vis du staphylocoque, et non vis-à-vis du colibacille.

2° Les néphrites préexistant à l'expérience, de même que celles qui peuvent apparaître au cours de l'expérience, comme conséquence immédiate du passage à travers le rein du médicament étudié, peuvent diminuer ou supprimer l'apparition dans l'urine des propriétés bactéricides. A la suite de l'inflammation rénale, l'élimination se fait plus difficilement, ce qui explique aussi l'augmentation de la toxicité chez des animaux présentant des néphrites avant l'expérience; on sait également que l'action des antiseptiques se fait sentir beaucoup plus faiblement en milieu albuminé que dans un milieu dépourvu d'albumines.

(1) Ces substances, la plupart connues, ont été préparées par M. Matti dans le laboratoire de M. Fourneau.

L'albuminurie peut être massive chez le lapin, dont le rein est particulièrement sensible. Ainsi, chez un animal qui avait reçu 2 grammes par kilogramme d'urotropine par la bouche, soit moins du cinquième de la dose généralement mortelle, on a pu observer la prise en gel de l'urine, provenant de la précipitation de l'albumine de l'urine par ses sels ; la sonde urétérale s'en trouvait obstruée et l'urine était prise en masse au fond du tube à essai.

La formation de ces néphrites fait qu'il est peu recommandable de comparer deux médicaments sur le même animal, même s'il n'y a pas eu d'albuminurie ; aussi, toutes les expériences rapportées ici concernent-elles des animaux neufs n'ayant servi à aucune expérience préalable.

4° L'intensité de la diurèse au cours de l'expérience est aussi, comme l'on pouvait logiquement s'y attendre, une cause de variation ; nous avons tâché d'y remédier en utilisant toujours des lapins à jeun depuis dix-huit heures, en diluant les médicaments dans une quantité d'eau constante, et en privant les animaux de boisson au cours de l'expérience. Malgré cela, la quantité d'urine sécrétée pendant l'expérience varie beaucoup ; là aussi, la toxicité des médicaments, ses propriétés diurétiques ou antidiurétiques et la formation de néphrites interviennent.

5° Enfin, il reste à mentionner que le *pH* de l'urine peut varier au cours des expériences. On sait que l'urine des herbivores est généralement alcaline, contrairement à celle de l'homme et des carnivores. Au cours de nos essais, les variations de *pH* ne nous ont paru avoir d'effet que sur l'action de l'hexaméthylène tétramine. Nous reviendrons sur ce point à propos des essais *in vitro* des antiseptiques étudiés.

II. — COMPARAISON ENTRE LE POUVOIR BACTÉRICIDE DE L'URINE APRÈS ADMINISTRATION INTRAVEINEUSE D'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE, D'IODOMÉTHYLATE D'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE (F. 790), ET D'IODO-ÉTHALONATE D'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE (F. 789).

Dans une première série d'expériences, nous avons utilisé la voie intraveineuse pour introduire nos médicaments dans la circulation, afin de parvenir à mettre en évidence d'une façon

aussi nette que possible le fait de l'apparition d'urine bactéricide.

Une dose constante de 1 gramme par kilogramme d'animal a été employée, et voici quels ont été les résultats obtenus :

NUMÉROS	URINE BACTÉRICIDE propre		REMARQUE
	Staphylocoque	<i>Bacterium coli</i>	
	heures	heures	
<i>Hexaméthylène tétramine</i> [urotropine] $(\text{CH}_2)_6\text{N}^4$:			
B 77, 6 août 1931 . . .	0	0	Réaction acide de l'urine
B 84, 31 juillet 1931 . .	2	2	
B 96, 30 septembre 1931.	1	1	
B 100, 1 ^{er} octobre 1931.	0	0	
C 1, 7 octobre 1931 . .	0	0	
<i>Iodométhylate d'hexaméthylène tétramine</i> [F. 790] $(\text{CH}_2)_6\text{N}^4\text{CH}_2\text{I}$:			
B 64, 23 juillet 1931 . .	+ de 4.	+ de 4.	Expérience interrompue.
B 67, 29 septembre 1931.	+ de 6.	4	
B 97, 24 septembre 1931.	6	4	
<i>Iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine</i> [F. 789] $(\text{CH}_2)_6\text{N}^4\text{IC}_2\text{H}_4\text{OH}$:			
B 56, 5 août 1931 . . .	+ de 6.	+ de 6.	Expérience interrompue.
B 100, 28 septembre 1931. .	8	6	
C 3, 8 octobre 1931 . .	+ de 7.	+ de 4.	Expérience interrompue.

De ces expériences, l'on peut tirer approximativement les valeurs moyennes suivantes :

Urotropine, action sur staphylocoque : une heure un quart; sur *Bacterium coli* : environ une demi-heure.

F. 790, action sur staphylocoque : cinq heures; sur *Bacterium coli* : quatre heures.

F. 789, action sur staphylocoque : sept heures; sur *Bacterium coli* : cinq heures.

De ces chiffres, on peut conclure que l'action antiseptique *in vivo* de l'hexaméthylène tétramine et de ses dérivés ne varie pas proportionnellement avec leur teneur en aldéhyde formique. Un autre facteur intervient qui peut être, soit la stabilité ou l'instabilité relative de ces produits, soit leurs propriétés bactéricides propres, c'est-à-dire leurs propriétés bactéricides avant leur décomposition.

En poursuivant ces expériences d'antiseptie urinaire sur le

lapin, qui, comme tous les herbivores en général, possède une urine alcaline, on se trouve avoir choisi un test particulièrement sévère pour l'hexaméthylène tétramine, qui agit plus faiblement en milieu alcalin qu'en milieu acide. L'urine humaine est en effet normalement acide, mais il se trouve que c'est précisément dans les cas d'infection urinaire que cette réaction acide se trouve modifiée en une urine alcaline.

La recherche d'antiseptiques urinaires actifs en milieu alcalin, aussi bien qu'en milieu acide, se trouve donc justifiée du point de vue de la thérapeutique humaine.

Il faut noter, d'autre part, la sévérité du test d'antisepsie urinaire établi ici. L'urine devient en effet capable de tuer tous les germes de colibacilles même après un ensemencement très large.

III. — POUVOIR BACTÉRICIDE

APRÈS TRAITEMENT PAR VOIE BUCCALE.

La variabilité s'est montrée, dans les expériences où le médicament était introduit par voie buccale, beaucoup plus grande que dans les expériences précédentes. Les doses introduites ont été calculées proportionnellement à la toxicité des produits étudiés, mais malgré cette précaution on n'a jamais pu observer d'action antiseptique dans l'urine des lapins traités par l'hexaméthylène tétramine, et même avec les autres médicaments l'action s'est toujours montrée irrégulière, sans qu'il y ait une proportionnalité exacte entre la dose introduite et l'effet observé sur l'urine. Les fortes doses semblent agir mal à cause des néphrites et des rétentions d'urine qu'elles provoquent; avec les faibles doses, au contraire, la diurèse a, dans certains cas, été si intense qu'elle a diminué l'effet antiseptique du produit sur l'urine.

Les nouveaux produits essayés dans ces expériences sont susceptibles d'exercer une action antiseptique dans l'urine même lorsqu'ils sont introduits par voie buccale alors que, dans ces conditions, l'hexaméthylène tétramine est inactive. Le passage rapide de l'urotropine de l'intestin jusque dans l'urine avait déjà été reconnu par de nombreux auteurs, de même le passage de ses dérivés est prouvé par les propriétés bactéricides acquises par l'urine, et par la présence d'iode, qui peut être

mis en évidence au moyen d'acide nitrique et de chloroforme.

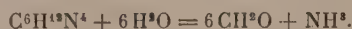
NUMÉROS	URINE BACTÉRICIDE propre		REMARQUES
	Staphylocoque	Bacterium coli	
<i>Hexaméthylène tétramine [urotropine] (CH²)₆N⁴ :</i>			
<i>Dose : 2 grammes par kilogramme :</i>			
C11, 16 novembre 1931.	0 heure.	0 heure.	Légère albuminurie.
<i>Dose : 4 grammes par kilogramme :</i>			
C14, 10. octobre 1931 .	0 heure.	0 heure:	Forte albuminurie, urine prise en gel.
C20, 4 novembre 1931.	Très légère action.		
<i>Iodométhylate d'hexaméthylène tétramine [F. 790] (CH²)₆N⁴CH²I :</i>			
<i>Dose : 2 grammes par kilogramme :</i>			
C10, 15 octobre 1931 .	3 heures ou plus.	5 heures.	Iode dans l'urine dès la première heure.
C13, 19 octobre 1931. .	Faible action.	1 heure.	Iode dans l'urine dès la première heure.
C21, 5 novembre 1931.	Sans action.	Sans action.	Très forte diurèse.
<i>Iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine [F. 789] (CH²)₆N⁴OH :</i>			
<i>Dose : 0 gr. 5 par kilogramme :</i>			
C26, 10 novembre 1931.	6 heures.	6 heures.	Iode dans l'urine dès la deuxième heure.
C27, 12 novembre 1931.	0 heure.	Faible action.	Iode dans l'urine dès la deuxième heure.
C28, 13 novembre 1931.	Faible action.		Iode dans l'urine dès la deuxième heure; très forte diurèse.
<i>Dose : 1 gramme par kilogramme :</i>			
C23, 9 novembre 1931.	+ de 2 heures.	+ de 2 heures.	Expérience interrompue.
<i>Dose : 2 grammes par kilogramme :</i>			
C17, 29 octobre 1931 .	0 heure.	Faible action.	Albuminurie.
C19, 3 novembre 1931.	6 heures.	6 heures.	Violente diarrhée, l'animal probablement malade avant l'ingestion du produit meurt le lendemain.

Les résultats obtenus sont très variables, toutefois l'on peut noter que, dans les cas les plus favorables, ils sont très voisins

de ceux observés après l'administration par voie intraveineuse des mêmes doses des mêmes produits.

IV. — ACTION ANTISEPTIQUE « IN VITRO », EN FONCTION DU pH DE LA SOLUTION.

L'hexaméthylène tétramine est un composé relativement instable qui, en milieu acide, se décompose progressivement en ses composants :



In vitro, son action antiseptique provient toujours de la mise en liberté d'aldéhyde formique, et de nombreux auteurs ont montré que, en milieu alcalin par exemple, lorsque la mise en liberté de la formaldéhyde se trouvait empêchée, l'hexaméthylène tétramine n'exerçait plus aucune action bactéricide, même à des concentrations de 2 p. 100 (Hanzlic et Collins, Hinman, Nicolaier).

Aussi, ayant constaté *in vivo* l'action antiseptique de deux dérivés de l'hexaméthylène tétramine même dans des urines alcalines, avons-nous recherché comment variait cette action en fonction de la réaction du milieu; pour cela, l'action antiseptique a été mesurée dans une série de solutions tamponnées où variaient à la fois le pH et la concentration. Les solutions tampons suivantes ont été utilisées, d'après Sorensen, borax-acide borique (pH 7 et 8), phosphate monosodique-phosphate disodique (pH 6, 7 et 8), citrate de Na-soude (pH 5 et 6). Toutes ces solutions tampons ont été préparées dans de l'eau bidistillée.

Ces valeurs antiseptiques ont été mesurées par rapport au bacille du côlon; les microorganismes étaient laissés pendant six heures en contact avec la solution, à 38°; ils étaient ensuite largement ensemencés sur gélose.

Les chiffres obtenus pour l'hexaméthylène tétramine correspondent bien à ceux fournis par l'analyse à Trendelenburg. Dans les mêmes conditions de durée et de température, cet auteur a trouvé que la décomposition de l'hexaméthylène en aldéhyde formique était nulle au pH 7 et atteignait environ 10 p. 100 au pH 5,6.

On constate en outre, ici, que l'action antiseptique de l'iodométhylate d'hexaméthylène tétramine est moindre en milieu très acide, mais se prolonge plus longtemps du côté de la neutralité.

CONCENTRATION de l'antiseptique	1/100	1/500	1/1.000	1/5.000	1/10.000
<i>Hexaméthylène :</i>					
pH 5	—	—	—	—	+
pH 5,5	+	+	+	+	+
pH 6	+	+	+	+	+
pH 6,5	+	+	+	+	+
pH 7	+	+	+	+	+
pH 8	+	+	+	+	+
<i>F. 790. Iodométhylate d'hexaméthylène :</i>					
pH 5	—	+	+	+	+
pH 5,5	—	+	+	+	+
pH 6	—	+	+	+	+
pH 6,5	+	+	+	+	+
pH 7	+	+	+	+	+
pH 8	+	+	+	+	+
<i>F. 789. Iodoéthanolate d'hexaméthylène :</i>					
pH 5	—	—	+	+	+
pH 5,5	—	—	+	+	+
pH 6	—	—	+	+	+
pH 6,5	—	—	+	+	+
pH 7	—	—	+	+	+
pH 8	—	—	+	+	+

Enfin l'action antiseptique de l'iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine s'est montrée, dans les limites du pH compatibles avec ces expériences, indépendante de l'acidité et de l'alcalinité du milieu. Ceci paraît indiquer que ce produit possède une action antiseptique propre et agit sans libérer d'aldéhyde formique, toutefois aucune preuve chimique d'une stabilité plus grande de ce produit n'a pu encore être fournie.

V. — TOXICITÉ RÉNALE SUR LE LAPIN.

Ainsi qu'on l'a vu au cours des essais sur le pouvoir bactéricide de l'urine, de fortes doses de tous les antiseptiques de la série de l'hexaméthylène tétramine ont toujours une action

néphritique nette. Dans le but d'apprécier l'importance de cette toxicité rénale, nous avons déterminé pour deux produits, l'hexaméthylène tétramine et son iodoéthanolate, la dose limitaire à laquelle apparaissent les néphrites.

On a utilisé dans ce but des lapins choisis parmi ceux qui ne présentaient aucune trace d'albumine à l'état normal.

Le résultat a été le suivant : la toxicité rénale de l'hexaméthylène et de l'iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine (F. 789) est identique pour les deux produits chez le lapin. La dose de 0,5 gramme par kilogramme par voie intraveineuse ne provoque pas l'apparition d'albumine dans l'urine; la dose de 1,0 gramme par kilogramme provoque l'apparition des premiers symptômes de néphrite, et l'apparition d'albumine dans l'urine.

La dose toxique de l'hexaméthylène tétramine est difficile à déterminer d'une façon précise, du fait que la toxicité est rénale et que l'évolution des néphrites est souvent variable. Trendelenburg signale que par voie buccale la dose de 10 grammes par kilogramme ne provoque pas la mort.

Par voie intraveineuse, cette même dose, injectée par quantités fractionnées en un jour, a provoqué la mort dans une de nos expériences.

Le produit F. 789, iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine, est toléré à 1 gramme par kilogramme, et toxique à 2 grammes par kilogramme.

Le produit F. 790, iodométhylate possède à peu de chose près la même toxicité chez le lapin.

La toxicité de ces deux produits par rapport à l'hexaméthylène tétramine oscillerait donc entre 5 et 10 contre 1.

CONCLUSIONS.

1° La technique d'essai des antiseptiques urinaires décrite par Leonard dans ses essais sur l'hexylrésorcine donne également des résultats positifs dans l'étude des dérivés de l'hexaméthylène tétramine; l'urine des lapins traités par ce produit et par certains de ses dérivés acquiert, du fait de ce traitement, des propriétés bactéricides qui la rendent capable de détruire des cultures de staphylocoque doré ou de *Bacterium coli*;

2° Des essais sur des antiseptiques appartenant à d'autres séries chimiques, comme la néotropine, se sont, par contre, montrés négatifs, ce qui permet de penser que cette technique constitue un critère relativement sévère de l'action antiseptique urinaire;

3° Plusieurs dérivés de l'hexaméthylène tétramine ont été étudiés au point de vue des propriétés bactéricides qu'ils sont susceptibles de conférer à l'urine; parmi ceux-ci le plus actif a été l'iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine;

4° L'iodoéthanolate d'hexaméthylène tétramine possède la même toxicité rénale que l'hexaméthylène tétramine; il montre une toxicité générale plus élevée, environ trois à quatre fois plus forte par voie intraveineuse pour le lapin;

5° Par contre, l'iodoéthanolate se montre beaucoup plus actif comme antiseptique urinaire; par voie veineuse, chez le lapin, il s'est montré constamment susceptible de passer dans les urines et de rendre celles-ci antiseptiques alors que cette action est très inconstante dans le cas de l'hexaméthylène tétramine; à dose égale, l'urine sécrétée par un animal traité par l'iodoéthanolate s'est montrée bactéricide vis-à-vis du bacille du côlon pendant cinq heures en moyenne; par l'hexaméthylène, pendant une demi-heure seulement. A doses équivalentes (un tiers environ de la dose toxique), par voie buccale, l'hexaméthylène tétramine n'a pas montré d'action bactéricide, l'iodoéthanolate en a présenté une très nette;

6° *In vitro*, alors que l'hexaméthylène n'a d'action antiseptique qu'en milieu acide à partir des pH inférieurs à 5,5, le produit iodé possède un pouvoir antiseptique indépendant de la réaction du milieu.

Le Gérant : G. MASSON.

